

Aus dem Institut für Medizin
der Kernforschungsanlage Jülich GmbH
Direktor: Prof. Dr. L. E. Feinendegen

STRAHLENSENSIBILISIERUNG HYPOXISCHER TUMORZELLEN

**In vivo Messungen der relativen Wirksamkeit
elektronenaffiner Verbindungen durch Zellmarkierung
mit 125-Jod- und 131-Jod-Desoxyuridin**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Klaus Gewehr
aus Celle

1977

Aus dem Institut für Medizin
der Kernforschungsanlage Jülich GmbH
Direktor: Prof. Dr. L. E. Feinendegen

STRAHLENSENSIBILISIERUNG HYPOXISCHER TUMORZELLEN

**In vivo Messungen der relativen Wirksamkeit
elektronenaffiner Verbindungen durch Zellmarkierung
mit 125-Jod- und 131-Jod-Desoxyuridin**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Klaus Gewehr

aus Celle

1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026



Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	<u>EINLEITUNG</u>	1
2.	<u>GRUNDLAGEN</u>	3
2.1	Tumorkinetik	3
2.2	Euoxische und hypoxische Zellen	5
2.3	Strahlenschaden und Reparation	6
2.4	Der Sauerstoffeffekt	9
2.5	Strahlensensibilisierung durch elektronen- affine Substanzen	12
3.	<u>MATERIAL UND METHODE</u>	15
3.1	Tiere und Tumor	15
3.2	Tumervolumenmessung	16
3.3	Bestrahlungseinrichtung	16
3.4	Sensibilisatoren	17
3.5	Die IUdR-Doppekmarkierungstechnik	19
3.51	Joddesoxyuridin (IUdR)	20
3.52	Markierungsschema	23
3.6	Tumormeßplatz	24
3.7	Versuchsdurchführung	26
3.8	Auswertung der Meßdaten	28
4.	<u>ERGEBNISSE</u>	31
4.1	Messung der Effekte von elektronenaffinen Strahlensensibilisatoren	31
4.11	Wirkung eines elektronenaffinen Strahlen- sensibilisators auf die Zellverlustrate in euoxischen und hypoxischen Tumorbereichen	31
4.12	Vergleich der <u>in vivo</u> Wirksamkeit von ver- schiedenen Strahlensensibilisatoren für hypoxische Tumorzellen	32
4.13	Abhängigkeit der <u>in vivo</u> Wirksamkeit des Sensibilisators Ro-07-0582 vom Applikations- zeitpunkt	34

	Seite
4.14 Einfluß der Strahlensensibilisierung auf den Sauerstoffeffekt	35
4.15 Abhängigkeit der Bestrahlungs- und Sensibilisierungseffekte von der Tumorgröße	38
4.2 Abschätzungen unter Verwendung eines Tumormodells	41
4.21 Entwicklung eines Tumormodells	41
4.22 Abhängigkeit der Behandlungseffekte vom Abstand der Zellen zur Blut- kapillare	43
4.23 Anteil der hypoxischen Zellen am Ge- samttumor als Funktion der Tumorgröße	48
4.3 Einfluß von Bestrahlung und Sensibili- sierung auf das Tumorwachstum	49
5. <u>DISKUSSION</u>	53
5.1 Diskussion der Methode	53
5.2 Diskussion der Ergebnisse	55
5.21 Strahlensensibilisierung <u>in vivo</u> durch elektronenaffine Substanzen	55
5.22 Tumormodell und Diffusionsradius von O ₂ bzw. Ro-O7-O582	58
5.23 Anteil hypoxischer Zellen am Tumor	59
5.24 Tumorwachstumsbetrachtungen	62
6. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	65
7. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	67

1. EINLEITUNG

Angesichts der ständig steigenden Zahl von Krebserkrankungen in unserer Zeit setzt man große Hoffnung in die verstärkten Bemühungen um eine wirksame Verbesserung der Behandlung von Tumoren. Naturwissenschaft und Technik liefern neue Forschungsmethoden und damit neue Möglichkeiten zu einer Weiterentwicklung der Tumorthherapie.

Der Erfolg einer Behandlung von Tumoren mit ionisierenden Strahlen wird bestimmt durch das Ausmaß der letalen Schädigung von Tumorzellen bei möglicher Schonung des zwangsläufig mitbestrahlten gesunden Gewebes in der Umgebung des Tumors. Jede Erhöhung des Strahlenschadens, die sich im Tumor stärker auswirkt als im gesunden Gewebe, bedeutet somit eine Verbesserung der Strahlentherapie.

Die Wirksamkeit von Gamma-Strahlen wird in der Tumorthherapie eingeschränkt durch das Auftreten von sauerstoffarmen Tumorzellen, die eine verringerte Strahlenempfindlichkeit aufweisen (14,45,66,67,156,209). Ein Abbau der Strahlenresistenz dieser hypoxischen Zellen verspricht daher eine Steigerung der Effektivität der herkömmlichen Strahlentherapie. Ein Weg mit solchem Ziel bietet sich in der Strahlensensibilisierung hypoxischer Tumorzellen durch geeignete chemische Substanzen (3,4,7,51,76,87).

Im Hinblick auf eine klinische Anwendung dieser radio-chemischen Kombinationstherapie ist eine systematische experimentelle Erforschung am lebenden Organismus von höchster Wichtigkeit (76). Ein allgemeines Problem ist hierbei die Erfassung der zellulären Effekte unter in vivo Bedingungen und ohne Störung der Tumor-Wirt-Beziehung.

Ein hierfür geeignetes Verfahren ist die Zellmarkierung mit radioaktivem 125-Jod- und 131-Jod-Desoxyuridin (75),

die eine externe Messung der Zellverlusten simultan in euoxischen und hypoxischen Zellfraktionen lebender Tumortiere möglich macht (29).

Es ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, mit Hilfe dieser Meßtechnik die in vivo Wirksamkeit von Strahlensensibilisatoren auf Tumorbereiche unterschiedlicher Sauerstoffversorgung zu untersuchen, um so die Möglichkeit der Strahlensensibilisierung zu einer Verbesserung der Behandlung auch von menschlichen Tumoren aufzeigen zu können.

2. GRUNDLAGEN

2.1 Tumorkinetik

Gesunde lebende Zellen stehen in einem Fließgleichgewicht zwischen Zelltod und Zellneubildung. Die Regelung dieses Gleichgewichtes erfolgt durch das Wechselspiel von interzellulären Signalsubstanzen, die über intrazelluläre Stoffwechselprozesse die Teilungsaktivität der Zellen steuern können. Ist dieser Regelkreismechanismus gestört, kann es zu einer unkontrollierten Zellvermehrung kommen, was bei einem Tumor der Fall ist (75,78,193).

Abbildung 1 zeigt den Wachstumsverlauf des hier verwendeten Experimentaltumors Sarkom 180 an NMRI-Mäusen.

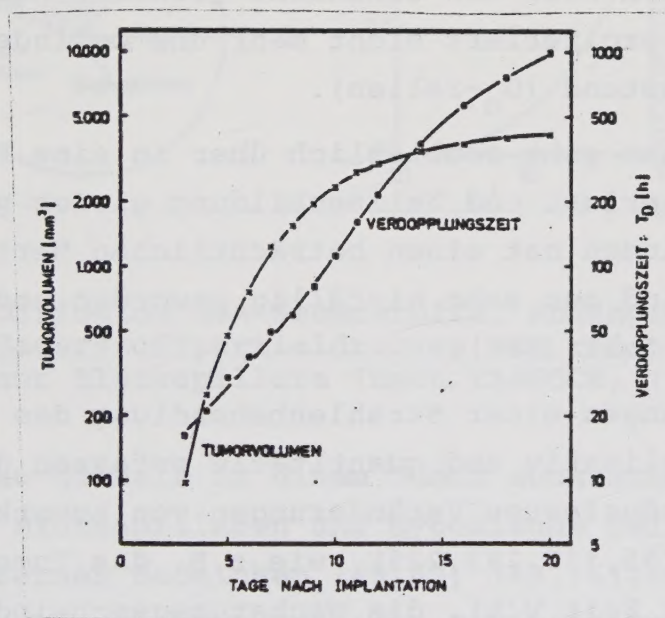


Abb. 1: Tumolvolumen und Tumorverdopplungszeit als Funktion der Zeit (nach Mühlensiepen und Porschen, (1976) (171)).

Das Tumolvolumen vergrößert sich zunächst exponentiell, in der halblogarithmischen Darstellung ergibt sich daher eine Anfangsgerade. Während dieser Phase entspricht die Tumorverdopplungszeit T_D etwa der Generationsdauer

T_G der Tumorzellen (91,164,183,186); das bedeutet, daß nahezu alle Tumorzellen proliferieren. Das Verhältnis der Anzahl der proliferierenden Zellen N_p zur Gesamtzahl der Zellen N , nach MENDELSON, (1962) (165) die Growth Fraction

$$GF = \frac{N_p}{N} ,$$

hat in dieser frühen Phase den Maximalwert.

Auf die exponentielle Wachstumsphase folgt die Bremsphase, in der die Wachstumsgeschwindigkeit sich verringert. Die Tumorverdopplungszeit nimmt zu und wird größer als die Generationsdauer der Zellen. Gleichzeitig stellt man ein Absinken der Growth Fraction fest (91,251). Das bedeutet, es geht mit zunehmendem Tumervolumen nicht nur eine immer größere Zahl an Zellen durch Zelltod verloren, sondern auch ein zunehmend größerer Anteil der Tumorzellen proliferiert nicht mehr und befindet sich in einem Ruhezustand (G_0 -Zellen).

Die Bremsphase geht schließlich über in eine Plateauphase, in der Zellverlust und Zellneubildung gleich groß werden. Das Tumervolumen hat einen beträchtlichen Wert erreicht, die Tiere sind nun sehr anfällig geworden und sterben nach kurzer Zeit (186).

Die Auswirkungen einer Strahlenbehandlung des Tumors lassen sich qualitativ und quantitativ erfassen durch die strahlungsinduzierten Veränderungen von tumorkinetischen Parametern (35,116,183,225), wie z.B. das Tumervolumen als Funktion der Zeit $V(t)$, die Wachstumsgeschwindigkeit $\dot{V} = dV/dt$, die Zellproduktionsrate α , die Zellverlustrate λ . Zwischen diesen Größen läßt sich folgender Zusammenhang herleiten (78):

$$\alpha = \dot{V}/V + 0,5 \lambda$$

In dieser Arbeit soll durch Messungen der Zellverlust-rate λ und des Tumorumfanges $V(t)$ eine Aussage gewonnen werden über die in vivo Wirksamkeit von radio-chemischen Kombinationsbehandlungen maligner Tumoren.

2.2 Euoxische und hypoxische Zellen

Tumorzellen proliferieren in der Wachstumsphase mit einer höheren Rate als sie zugrunde gehen. Da der Tumor schneller wächst als das ihn versorgende Blutkapillarsystem, entstehen im Tumor Zellfraktionen, die einen reduzierten Sauerstoffpartialdruck aufweisen (Abb. 2).

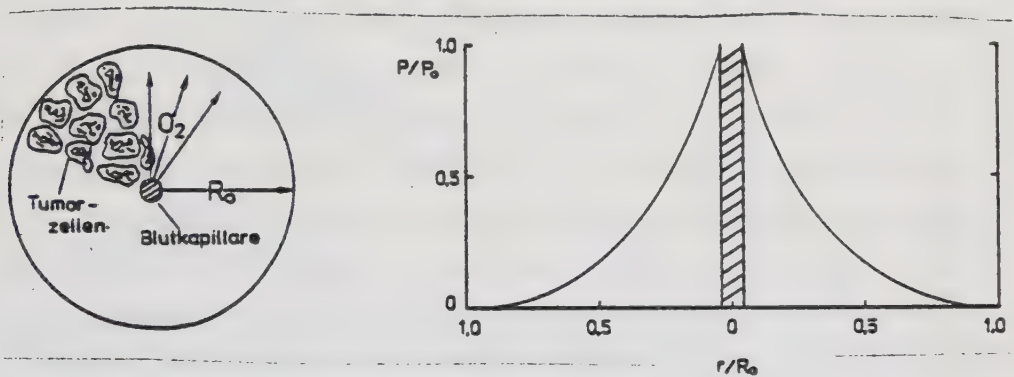


Abb. 2: Diffusion des Sauerstoffs, Abhängigkeit des Sauerstoffpartialdruckes vom radialen Abstand zur Blutkapillare (nach TANNOCK, (1972) (241)).

Man findet deshalb in einem Tumor euoxische Zellen in der Nähe der Blutkapillaren und hypoxische Zellen in den kapillarfernen Bereichen (48,67, 149,161,240,241,244,245, 252). Die hypoxischen Bereiche gehen in solche Gebiete über, in denen Nekrose vorherrscht und keine intakten Zellen mehr vorliegen (22,61,223,224,244,245). Unterhalb eines bestimmten Sauerstoffpartialdruckes kommt die Proliferationstätigkeit der Zellen zum Erliegen, ohne daß diese Zellen absterben (G_0 -Zellen) (93,155,182,241,258). Bei einer verbesserten Sauerstoffzufuhr können diese hypoxischen Zellen ihre Teilungsaktivität wieder aufnehmen (25, 142).

In den hypoxischen Tumorbereichen ist der durch Gamma-Bestrahlung induzierbare Strahlenschaden geringer als in den euoxischen Bereichen (Kapitel 2.4). Hypoxische Zellen können daher eine Strahlenbehandlung leichter überleben. Sie können nach Absterben der strahlengeschädigten euoxischen Zellen reoxygeniert werden und dann das Tumorstadium erneut einleiten (130,142,244,255,256). Es ist daher wichtig, bei einer Strahlenbehandlung auch die hypoxischen Zellen letal zu schädigen.

2.3 Strahlenschaden und Reparation

Der primäre physikalische Prozeß bei einer Gamma-Bestrahlung ist eine Energieabsorption, die in dem stark wasserhaltigen biologischen Material überwiegend auf Compton-Effekt und Photo-Effekt beruht und ionisierende Sekundärelektronen erzeugt. Es folgen chemische Reaktionen der durch Ionisation und Dissoziation gebildeten Radikale. Ein Strahlenschaden an einem lebenswichtigen Biomolekül kann daher sowohl durch unmittelbare Wechselwirkung mit der ionisierenden Strahlung hervorgerufen werden (direkte Strahlenwirkung), als auch durch Reaktionen radiolytischer Zersetzungsprodukte vor allem des Wassers (indirekte Strahlenwirkung) (90,101,106,135,213,228). Die wesentlichen Produkte der Wasserradiolyse sind das hydratisierte Elektron e_{aq}^- , das OH-Radikal $\cdot OH$, der atomare Wasserstoff $H\cdot$, Wasserstoffperoxyd H_2O_2 und molekularer Wasserstoff H_2 (6,73,135,237,254).

Die Lebensfähigkeit einer biologischen Zelle wird am stärksten eingeschränkt durch einen Schaden an der DNS (Abb. 3) im Zellkern (56,132,234,236).

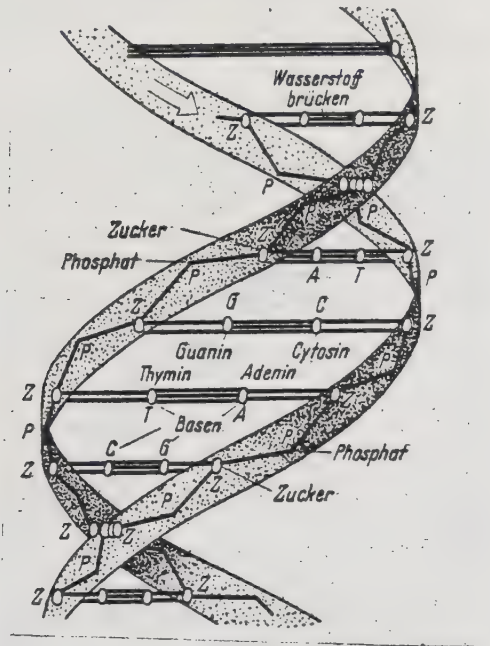


Abb. 3: Doppelhelix der DNS (Modell von Watson und Crick) (104,259,260).

Als direkte und indirekte Strahlenschäden an der DNS beobachtet man (228,236):

1. Einzel- und Doppelstrangbrüche in der DNS-Helix durch Spaltung der Phosphatdiesterbindung zwischen den Nukleotiden.
2. Vernetzungen durch Bildung intra- oder intermolekularer Bindungen.
3. Veränderungen oder Eliminierung der Basen, sowie Aufbrechen der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen der beiden DNS-Stränge.

Abbildung 4 zeigt eine Serie von Dosiseffektkurven bestrahlter Zellkulturen. Die besondere Schulterform dieser Kurven deutet darauf hin, daß bei kleinen Bestrahlungsdosen ein subletaler Schaden induziert wird, der erst bei höheren Bestrahlungsdosen zum letalen Schaden wird (63,64,135,218,248,264).

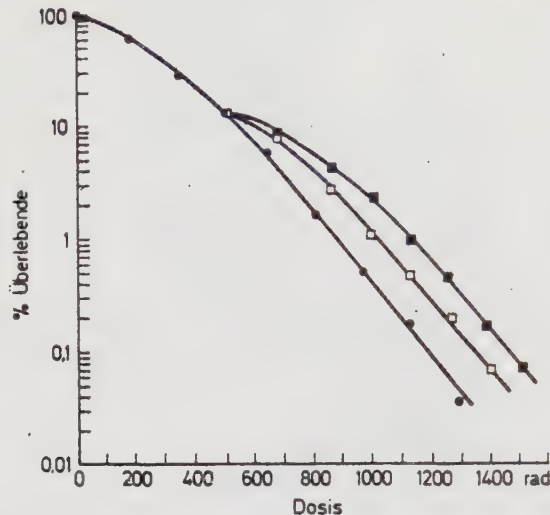


Abb. 4: Dosiseffektkurven von chinesischen Hamsterzellen bei einmaliger Bestrahlung (untere Kurve) und bei fraktionierter Bestrahlung (obere beiden Kurven), Fraktionierungsintervall 2,5 Std. bzw. 23 Std. (nach ELKIND und SUTTON, (1960) (64)).

Die Fraktionierung der Bestrahlung in Abbildung 4 zeigt, daß eine Erholung vom subletalen Schaden möglich ist.

Die generelle Feststellung, daß Zellen sich nach einer Bestrahlung erholen können (53,62,63,122,133,159,177), offenbart ihre Fähigkeit, Strahlenschäden teilweise oder ganz zu reparieren. Nach dem Modell von KAPPOS und POHLIT (144) unterscheidet man reparierbare und nicht reparierbare Schäden. Der Anteil des nicht reparierbaren Schadens vergrößert sich mit steigender linearer Energieübertragung (LET) der verwendeten Strahlung (15,30,83,182). Die Reparationsfähigkeit der Zellen hängt weitgehend von ihrem Energiestoffwechsel ab (182). Tumorzellen mit einem schlechteren Energiestoffwechsel haben gegenüber dem gesunden Gewebe generell eine geringere Reparationsfähigkeit. Viele

Faktoren der Reparatur von Strahlenschäden sind allerdings noch unerforscht.

2.4 Der Sauerstoffeffekt

Der durch Gamma-Bestrahlung erzielte Strahlenschaden hängt weitgehend von der Sauerstoffversorgung des bestrahlten Zellsystems ab (14,45,54,95,127,128,170,242). Ein vollständiger Sauerstoffentzug verringert die Strahlenempfindlichkeit der Zellen etwa um einen Faktor 2,8 (Abb. 5) (25, 27,65,66,118,156,249,271).

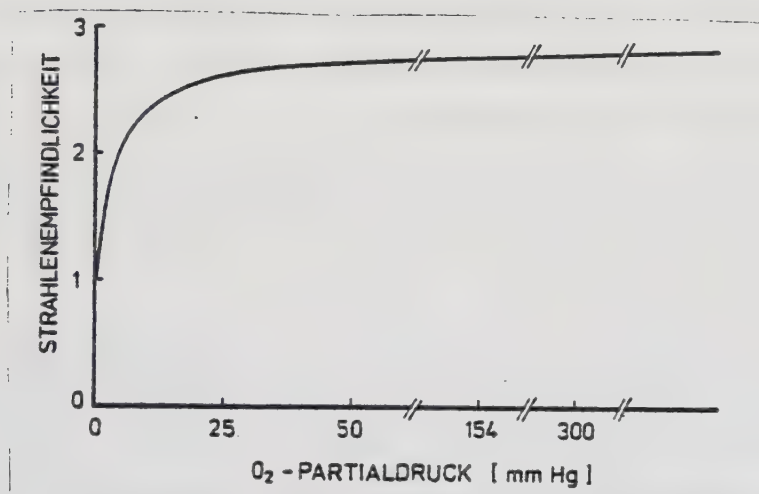


Abb. 5: Strahlenempfindlichkeit als Funktion des Sauerstoffpartialdruckes (nach THOMLINSON, (1967) (243)).

Um in einem sauerstoffarmen Zellsystem das gleiche Ausmaß an Strahlenschäden zu erzeugen wie in einem sauerstoffreichen Zellsystem, ist eine um den Sauerstoff-Faktor OER (Oxygen Enhancement Ratio) höhere Strahlendosis erforderlich (146).

$$\text{OER} = \frac{D^{\text{hypox}}}{D^{\text{euox}}}$$

wobei D^{hypox} die Strahlendosis in den hypoxischen und D^{euox} die Strahlendosis in den euoxischen Tumorbereichen darstellt.

Diese als Sauerstoffeffekt bekannte Erscheinung findet bei der Strahlenbehandlung von Tumoren beträchtliche Bedeutung, denn viele Tumoren enthalten Zellbereiche, die einer ungenügenden Sauerstoffversorgung unterliegen (48, 149, 150, 195, 230, 245, 270).

Um der Begrenzung der Strahlentherapie durch den Sauerstoffeffekt gezielt zu begegnen, wäre ein Verständnis der ablaufenden Prozesse nützlich. Trotz zahlreicher Arbeiten auf diesem Gebiet ist man heute von einem vollständigen Verständnis noch weit entfernt (106, 146, 249). Folgende wichtige Erkenntnisse hat man jedoch über die Wirkung des Sauerstoffs gewonnen:

1. Der Sauerstoff stellt im wesentlichen einen Dosisverstärkungsfaktor dar, der auf radiochemische Reaktionen zurückzuführen ist (14, 94, 146, 152, 209, 249).
2. Der Sauerstoff muß während der Bestrahlung anwesend sein, Millisekunden nach der Bestrahlung zeigt er keine direkte Wirkung mehr (10, 69, 131, 217, 262).
3. Der Sauerstoff kann mit einem strahlengeschädigten Molekül, unmittelbar nachdem es verändert wurde, reagieren; dadurch manifestiert sich der induzierte Strahlenschaden (134, 217).
4. Betrachtungen von Reaktionskonstanten haben gezeigt, daß eine Reaktion des Sauerstoffs mit primären Radikalen, wie z.B. das hydratisierte Elektron, nicht die entscheidende Ursache für den Sauerstoffeffekt sein kann (146).
5. Der Sauerstoffeffekt ist dosisabhängig, er verringert sich für kleinere Strahlendosen (26, 44, 157, 249).

6. Der Sauerstoffeffekt hängt von der Qualität der Strahlung ab, er verringert sich mit steigendem LET der Strahlung (13,31,185,184).
7. Unter kompletter Anoxie ist kein subletaler Strahlenschaden induzierbar (158).

Die Strahlenwirkung zeigt also bei den oxischen und hypoxischen Zellen nicht nur quantitative sondern auch qualitative Unterschiede.

Obwohl der Sauerstoffeffekt noch nicht vollständig verstanden ist, verfolgt man bereits verschiedene Wege, um die Strahlenresistenz der hypoxischen Tumorzellen abzubauen.

Ein bereits angewandtes Verfahren ist das der Reoxygenierung durch fraktionierte Bestrahlung (20,68,85,88,142,175,206,255,257). Nach Absterben der durch eine erste Bestrahlung geschädigten Zellen kann ein Teil der überlebenden hypoxischen Zellen reoxygeniert werden und dann durch eine zweite Bestrahlung ebenfalls letal geschädigt werden.

Die Feststellung, daß mit steigender linearer Energieübertragung (LET) der Strahlung der Sauerstoffeffekt abnimmt, führt zum Übergang zu Teilchenstrahlen mit hohem LET-Wert, wie Neutronen- (28,107,109,114,160,162,187,188,190), Alpha-Teilchen (184,185,199) oder Mesonenstrahlen (86,129,198,211).

Weitere Wege zur letalen Bestrahlung hypoxischer Zellen schließen chemische und physikalische Methoden ein. Unter den letzteren hat sich die Hyperthermie hervorgetan (16,21,57,58,59,111,172,184). Bei der Strahlensensibilisierung durch chemische Substanzen erwiesen sich einige stark elektronenaffine Verbindungen als gute Sensibilisatoren für hypoxische Zellen (3,38,76,108,179,200,232,238,266). Ihnen gilt das Interesse dieser Arbeit.

Der beste Strahlensensibilisator für hypoxische Zellen ist jedoch nach wie vor der Sauerstoff (14,163,167). Man versuchte daher Geräte zu entwickeln, die eine erhöhte Sauerstoffspannung im bestrahlten Gewebe erzeugen sollten. Der klinisch therapeutische Erfolg blieb jedoch versagt (115, 143,267).

2.5 Strahlensensibilisierung durch elektronenaffine Substanzen

Einige chemische Verbindungen mit hohem Redox-Potential vermögen hypoxische Zellen zu sensibilisieren (97,100,200,220). RALEIGH et al., (1973) (200), konnte in vitro zeigen, daß eine enge Beziehung besteht zwischen der Elektronenaffinität einer Substanz und seiner Fähigkeit zur Strahlensensibilisierung hypoxischer Zellen (Abb. 6).

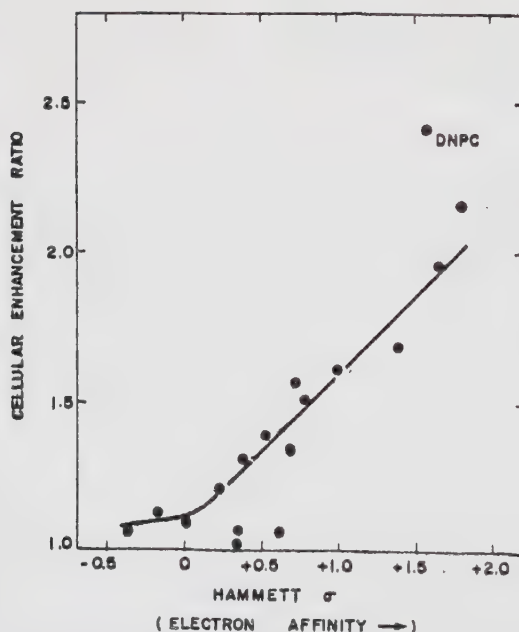


Abb. 6: Strahlensensibilisierung von Zellen als Funktion der Elektronenaffinität des Sensibilisators (nach RALEIGH et al., (1973)).

Über den molekularen Wirkungsmechanismus der elektronenaffinen Strahlensensibilisatoren herrscht noch weitgehend Unklarheit. Von ADAMS (1,4,8) wurde 1969 ein Modell vorgeschlagen, das einen Elektronenübergang vorsieht von dem durch Strahlung ionisierten oder polarisierten Targetmolekül zum stark elektronenaffinen Sensibilisator (Abb. 7).

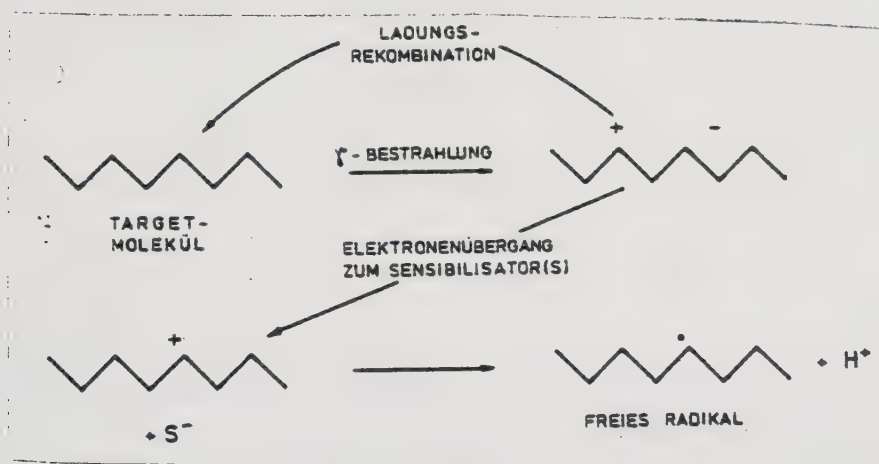


Abb. 7: Wirkungsmechanismus elektronenaffiner Strahlensensibilisatoren (nach ADAMS und COOKE, (1969)).

Die Wahrscheinlichkeit der Ladungsrekombination und damit der Selbstheilung des Targetmoleküls wird durch den Elektronenübergang zum Sensibilisator herabgesetzt. Dadurch wird der Zerfall des ionisierten Targetmoleküls in ein stabiles freies Radikal begünstigt, was eine Festigung des direkten Strahlenschadens bedeutet. Diese Hypothese des direkten Elektronenübergangs zum Sensibilisator fand Unterstützung durch Experimente mit der Impulsradiolyse (10,69,100,263,269) und der Elektronenspinresonanz (100,169,263,269).

CHAPMAN et al., (1973) (39) fanden in in vitro Versuchen neben dem Elektronenübergang zum Sensibilisator auch strahlungsinduzierte Bindungen des Sensibilisators an Radikale in der DNS. Sie variierten daher das Modell von ADAMS und COOKE, (1969) und schlugen als Wirkungsmechanismus vor, daß der Sensibilisator in den hypoxischen Bereichen

ähnlich wie der Sauerstoff in den euoxischen Bereichen durch Aufnahme eines Elektrons zu einem toxischen Produkt wird, das durch chemische Bindung an wichtige Moleküle der Zelle einen potentiell letalen Schaden verursachen kann (33,97,134,140,268).

Die zahlreichen in vitro durchgeführten Experimente verhalfen zum Auffinden verschiedener Strahlensensibilisatoren und führten zu Erkenntnissen über deren Sensibilisierungseigenschaften (6,11,32,40,47,97,123,204,219). Bei der in vivo Anwendung der in vitro erfolgreichen Sensibilisatoren ergaben sich jedoch in der Wirksamkeit zum Teil recht erhebliche Abweichungen (51,202,216,265). Offenbar spielt für die in vivo Wirksamkeit eines Sensibilisators ein zusätzlicher Faktor eine entscheidende Rolle: nämlich die Diffusionsfähigkeit des Sensibilisators von den Blutkapillaren bis zu den hypoxischen Zellfraktionen des Tumors, die vom Sauerstoff nicht mehr erreicht werden.

Anzeichen für eine gute in vivo Wirksamkeit zeigen vor allem zwei Gruppen von elektronenaffinen Verbindungen: die Nitrofurane (29,202) und die Nitroimidazole (18,23,52,214,227). Mit der in dieser Arbeit verwendeten Meßtechnik soll geprüft werden, inwieweit derartige elektronenaffine organische Verbindungen in der Lage sind, unter in vivo Bedingungen hypoxische Tumorzellen zu sensibilisieren.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1 Tiere und Tumor

In den Versuchen wurden weibliche Albino-Mäuse des Stammes NMRI verwendet; sie waren 8 - 12 Wochen alt und 25 - 28 g schwer. Jeweils vier wurden in einem Plastik Käfig gehalten, sie erhielten Wasser und Trockenfutter (Herilan R/M) ad libitum. Um eine Kontamination der Tiere durch radioaktiven Urin zu vermeiden, wurden Käfige und Streu täglich gewechselt. Ab dem zweiten Tag vor Versuchsbeginn wurde als Trinkwasser eine 0,1%-ige Natrium-Jodid-Lösung verabreicht, um die Jodspeicher im Körper abzusättigen (148).

Als Experimentaltumor diente das solide wachsende Crocker-Sarkom 180, das als Zellsuspension mit ca. 400000 lebenden Zellen in den rechten Unterschenkel der Mäuse subkutan implantiert wurde. Die Angehrate des Tumors betrug dabei über 98 %, die spontane Regression belief sich im Mittel auf 8 %.

Die Parameter der proliferierenden Zellen eines 5 Tage alten Sarkoms 180 sind nach SIMPSON-HERREN (221): Zellzykluszeit 13,5 Std., G₁-Phase 2,7 Std., S-Phase 7,8 Std., G₂-Phase 2,5 Std., Mitose ca. 0,5 Std.. Mit zunehmendem Tumoralter wird eine Verlängerung der Zellzykluszeiten beobachtet (212,222).

Der hier verwendete Tumor wird unter konstanten Bedingungen serientransplantiert (247). Sein experimenteller Vorteil liegt in seinem raschen Wachstum (61,110,247). Die beobachtete Tumorverdopplungszeit beträgt am 2. Tag etwa 15 Stunden, am 5. Tag 20,6 Stunden (171) (Abb. 1).

3.2 Tumolvolumenmessung

In Abständen von 1 - 2 Tagen wurde mit einer Schublehre der Durchmesser des Tumors in 3 Ebenen (D_1 - D_3) bestimmt. Die Messungen wurden jeweils von der gleichen Person durchgeführt, so konnte die Streubreite der Messungen unter 10 % gehalten werden. Aus den Tumordurchmessern D_{1-3} (mm) wurde das Tumolvolumen V (mm³) nach folgender Beziehung bestimmt (187):

$$V = 0,52 \times (D_1 \times D_2 \times D_3) - 60$$

Tiere, die vor Versuchsbeginn kein einheitliches Tumorstadium zeigten, wurden von dem Versuch ausgeschlossen.

3.3 Bestrahlungseinrichtung

Für die Gamma-Bestrahlung wurde eine Kobalt-60-Quelle benutzt, die auch zur Patientenbestrahlung eingesetzt wird (Abb. 8).

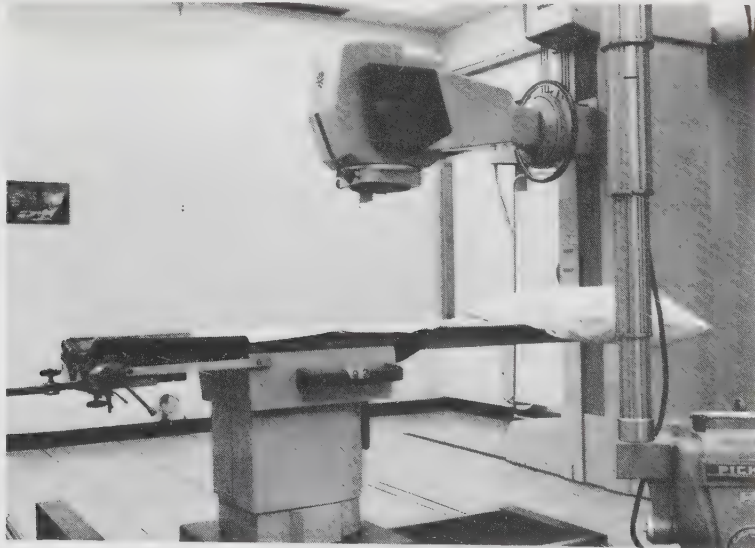


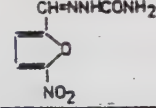
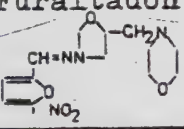
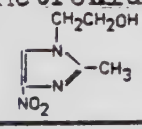
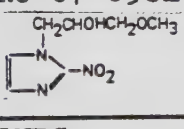
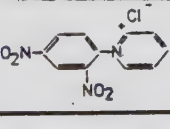
Abb. 8: Co⁶⁰-Gamma-Bestrahlungseinrichtung.

Die Gamma-Strahlung der Co^{60} -Quelle hat eine Energie von 1,2 MeV und einen mittleren LET-Wert von 0,3 KeV/ μm . Bei einer Dosisleistung von 250 R/min wurden Strahlendosen von 500 R bis 3000 R appliziert.

Die Körper der Tiere wurden mit Blei abgeschirmt, so daß nur die tumortragenden Unterschenkel der Tiere örtlich bestrahlt wurden.

3.4 Sensibilisatoren

Verschiedene elektronenaffine Substanzen haben die Fähigkeit gezeigt, hypoxische Zellen zu sensibilisieren. Zu ihnen gehören einige organische Nitro-Verbindungen, deren hohe Elektronenaffinität auf ihre Nitro-Gruppe zurückzuführen ist (205). In dieser Arbeit kamen folgende Substanzen zur Anwendung:

Verbindung	Appliz.Menge (mg/kg Maus)	LD 50 (mg/kg)	H ₂ O-Löslichk. (mg/l)
Nitrofurazon 	26 i.p. und i.v.	746 ') p.o.	210 ')
Furaltadon 	50 i.p. und i.v.	525 ') p.o.	750 ')
Metronidazol 	500 i.p.	2500 '" p.o.	10000 '"
Ro-07-0582 	500 i.p.	2100 '"' p.o.	28400 '"')
DNPC 	50 i.p.	350 '" i.p.	20000 '"

') PAUL, H.E., 1964 (178) '") RAUTH, A.M., 1975 (202)
 '"') BEGG, A.C., 1974 (23) '"') GRUNDBERG, E., 1966 (102)

Tabelle 1: Verwendete Strahlensensibilisatoren.

1. Die Nitrofuranverbindung Nitrofurazon, 5-Nitro-2-furaldehyd-semicarbazon, Lieferant: Fa. Serva, Heidelberg.

Diese Substanz zeigte eine gute Wirksamkeit (41,42 60,99,201,205,233), die sich auch unter in vivo Bedingungen erzielen ließ (29,202). Nitrofurazon ist als antibakterielles Chemotherapeutikum im Handel, seine pharmakologischen Eigenschaften sind daher weitgehend bekannt (178). Die niedrige Wasserlöslichkeit dieser Substanz ist bei experimentellen Untersuchungen allerdings von Nachteil (202).

2. Furaltadon, N-(5-nitro-2-furyliden)-3-amino-5(4-Morpholylmethyl)-2-oxazolodinon, Lieferant: Fa. Merck, Darmstadt.

Die Wasserlöslichkeit dieser Nitrofuranverbindung ist im Vergleich zu Nitrofurazon höher, die in vitro Wirksamkeit etwa gleich (41,97,178). Über in vivo Versuche ist noch nichts bekannt.

3. Metronidazol, 2-Methyl-5-nitroimidazol-1-ethanol, Lieferant: Fa. Bayer AG, Wuppertal.

Diese Substanz ist im Handel auch unter "Flagyl" bekannt. Sie wird in verschiedenen Arbeiten als guter in vivo Sensibilisator beschrieben (17,18,23,41,49,84, 105,231,246). Es ist daher interessant, die Wirksamkeit dieser Verbindung mit der hier verwendeten in vivo Meßtechnik zu prüfen.

4. Das 2-Nitroimidazol Ro-07-0582, 1-(2-Nitro-1-imidazolyl)-3-methoxy-2-propanol, Lieferant: Fa. Hoffmann-La Roche, Grenzach Wyhlen.

In der Literatur gilt die Substanz Ro-07-0582 als derzeit wirksamster Strahlensensibilisator für hypoxische Zellen (19,49,50,108,179,203,214,215,227). Ro-07-0582 hat eine sehr hohe Wasserlöslichkeit und ist daher für die experimentellen Untersuchungen gut geeignet.

5. DNPC, 1-(2,4-Dinitrophenyl)-Pyridinchlorid, Lieferant: Fa. Bayer AG, Wuppertal.

Bei in vitro Versuchen an chinesischen Hamsterzellen zeigte sich, daß diese Substanz eine höhere sensibilisierende Wirkung und eine niedrigere Toxizität aufwies, als auf Grund ihrer Elektronenaffinität zu erwarten war (97,201,202). DNPC zeichnet sich ebenfalls durch gute Wasserlöslichkeit aus.

3.5 Die IUdR-Doppelmarkierungstechnik

Von PORschen und FEINENDEGEN (186) wurde 1969 eine Methode der in vivo Bestimmung der Zellverlustrate bei Experimentaltumoren mit 125-Joddesoxyuridin vorgestellt. Diese Methode wurde dahingehend weiterentwickelt, daß durch Verwendung zweier Jodisotope (125-Jod und 131-Jod) die Zellverlustrate verschiedener Zellpopulationen in einem Tumor bestimmt werden kann (75). So ist es möglich geworden, durch Zellmarkierung verschieden oxygenisierter Tumorbereiche strahleninduzierte Veränderungen der Zellverlustrate in euoxischen und hypoxischen Tumorearealen getrennt zu beobachten (29,75).

3.51 Joddesoxyuridin (IUdR)

5-Jod-2'-Desoxyuridin (IUdR) ist ein Thymidinanalog und wird spezifisch in die DNS eingebaut (74,89,197,198).

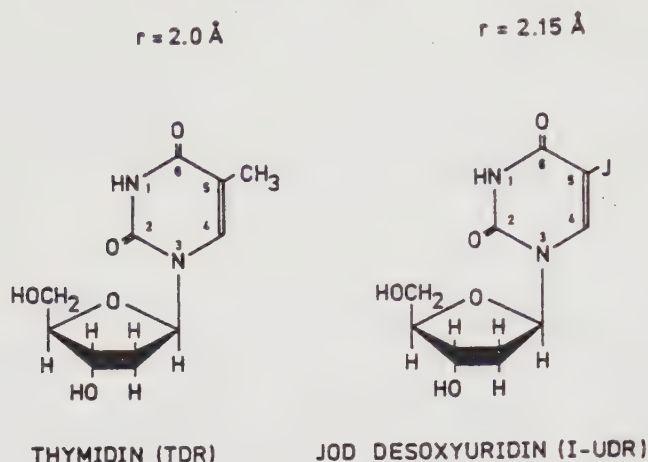


Abb. 9: Strukturformel von Thymidin und Joddesoxyuridin.

Am Pyrimidinring ist die Methylgruppe ($r = 2,0 \text{ \AA}$) des Thymidins in Position 5 durch ein Jodatome ($r = 2,15 \text{ \AA}$) ersetzt. Joddesoxyuridin kann mit den radioaktiven Isotopen ^{125}J oder ^{131}J markiert werden.

^{125}J zerfällt mit einer Halbwertszeit von 60 Tagen über den metastabilen Zustand des $^{125}\text{Te}^m$ in das stabile ^{125}Te . Es emittiert eine 35,4 KeV-Gamma-Strahlung. Der Zerfall von ^{125}J ist vom Auger-Effekt begleitet, was zu einer relativ hohen Radiotoxizität von ^{125}J -Joddesoxyuridin führt (34,71,72,77,125,145,147).

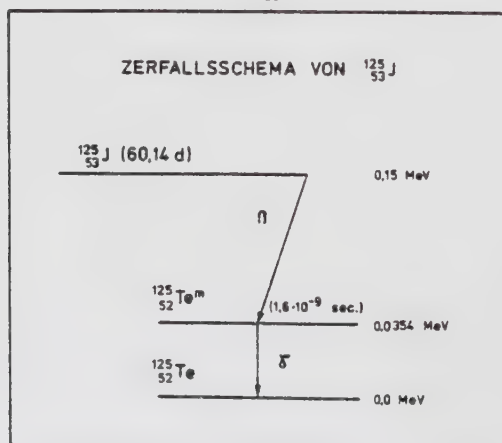


Abb. 10: Zerfallschema von ^{125}J .

^{131}J zerfällt mit einer Halbwertszeit von 8,05 Tagen, zunächst durch β^- -Zerfall in metastabile Zustände des $^{131}\text{Xe}^m$ und dann unter Emission von Gamma-Strahlung in den Grundzustand des ^{131}Xe . Die Gamma-Strahlung des ^{131}J zeigt ein breiteres Spektrum, 82 % der emittierten Gamma-Strahlung hat eine Energie von 364 KeV (Abb. 11).

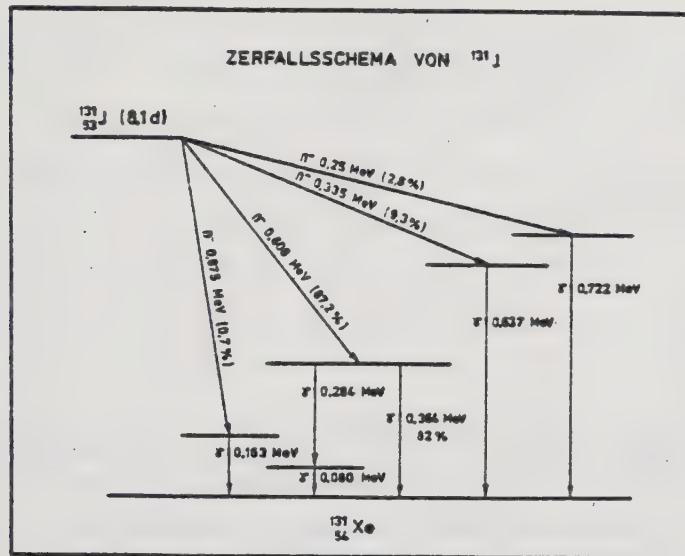


Abb. 11: Zerfallsschema von ^{131}J .

Von der den Zellen angebotenen Menge an Joddesoxyuridin werden etwa 5 % anstelle von Thymidin in die DNS der proliferierenden Zellen während der S-Phase eingebaut (74,79,113,174). Da Tumorzellen eine erhöhte Proliferationsrate aufweisen, wird Joddesoxyuridin relativ effizient in den Tumor eingebaut (186,191). Bei Zellteilung verteilt sich die Aktivität gleichmäßig auf die beiden Tochterzellen (181). Joddesoxyuridin ist biologisch stabil und geht nur bei Zelltod verloren. Die Wiederverwertung ist minimal (46,79,80,82,126,141,151).

Frei im Organismus zirkulierendes IUdR wird vorwiegend in der Leber mit einer Halbwertszeit von 2 - 3 Minuten (70,153) dehalogeniert und über die Niere ausgeschieden oder in jodaffinen Geweben eingelagert. Um eine solche Einlagerung von aktivem Jod zu vermeiden, wurden die Jod-speicher der Tiere durch ein vorheriges Angebot von stabilem Jod im Trinkwasser abgesättigt.

Bei den hier durchgeführten Versuchen wurde den Tieren eine nur schwach radiotoxische Menge (70,71,92,180) von 20 μ Ci 125-Joddesoxyuridin⁺) mit einer spezifischen Aktivität von 3 Ci/mMol und 20 μ Ci 131-Joddesoxyuridin⁺⁺) mit einer spezifischen Aktivität von 1 Ci/mMol in 0,1 ml einer isotonen Kochsalzlösung intravenös injiziert. Bei einem Versuch (Kapitel 4.15) wurde die injizierte Aktivität von 125-Joddesoxyuridin auf 40 μ Ci erhöht.

Als radiotoxischer Grenzwert wird von HUGHES, (1970) (137) für 125-IUdR 0,05 Zerfälle/Minute pro Zelle angegeben. 40 μ Ci 125-IUdR ergeben maximal einen Wert von 0,04 Zerfälle/Minute pro markierter Zelle (92), also einen Wert knapp unterhalb der radiotoxischen Grenze.

Die Radiotoxizität von 131-IUdR liegt um ein mehrfaches unter der von 125-IUdR (37,124).

Für die Aussagen der hier durchgeführten Versuche sind mögliche radiotoxische Einflüsse ohne größere Bedeutung, da stets nur die behandlungsbedingten Änderungen der Zellverlusten betrachtet wurden.

⁺) Radiochemical Centre, Amersham, England

⁺⁺) Eidgenössisches Institut für Reaktorforschung,
Isotopendienst, Würlingen, Schweiz

3.52 Markierungsschema

Zur Bestimmung der unterschiedlichen Strahlenempfindlichkeiten von hypoxischen und euoxischen Tumorbereichen wurde folgendes Markierungsschema benutzt:

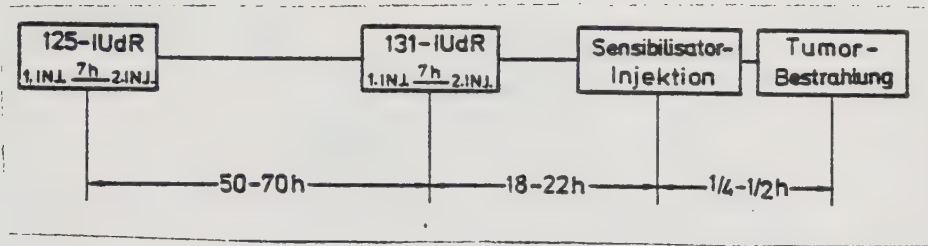


Abb. 12: Zeitliche Folge von Markierung, Sensibilisierung und Bestrahlung.

Zunächst werden zwei Injektionen von jeweils $10\text{ }\mu\text{Ci}$ 125-Joddesoxyuridin im Abstand von 7 Stunden verabreicht. Diese zeitliche Aufspaltung der Injektion gewährleistet ohne Zellzykluseffekte einen hohen IUdR-Einbau in die proliferierenden und DNS synthetisierenden Zellen in Kapillarnähe. 50 bis 70 Stunden nach der Markierung mit 125-IUdR erfolgen zwei entsprechende Injektionen mit je $10\text{ }\mu\text{Ci}$ 131-Joddesoxyuridin.

Zum Zeitpunkt der zweiten Markierung (131-IUdR) hat sich der Tracer aus der ersten Markierung (125-IUdR) schon über den Tumor verteilt (Abb. 13). Folglich markiert 125-Jod Zellen in allen Tumorbereichen, wobei besonders bei größeren Tumoren die hypoxischen Regionen überwiegen.

Hingegen markiert $^{131}\text{-IUdR}$ aus der letzten Injektion nur Zellen in der Nähe der Kapillaren und damit nahezu ausschließlich euoxische Zellen. Diese Verteilung von $^{125}\text{-IUdR}$ und $^{131}\text{-IUdR}$ im Tumor konnte autoradiographisch nachgewiesen werden (29).

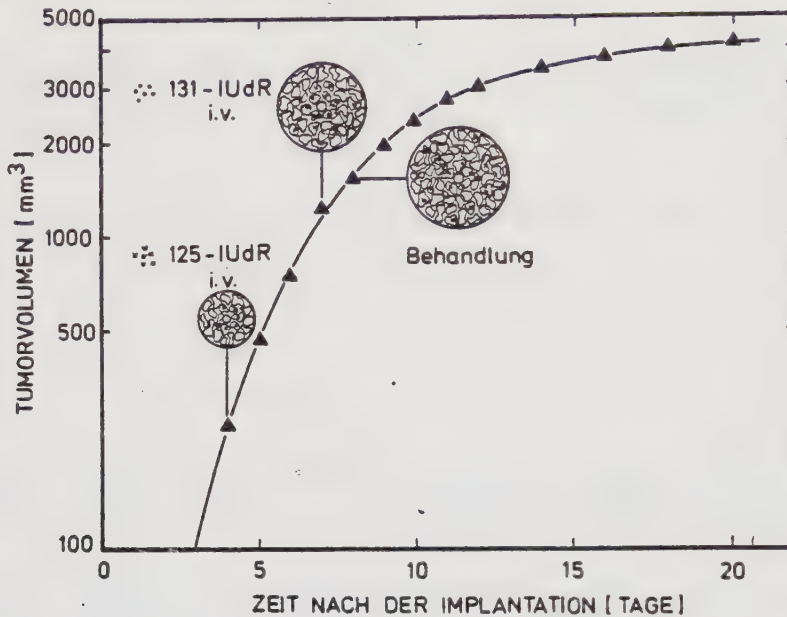


Abb. 13: Tumormarkierung mit $^{125}\text{-IUdR}$ und $^{131}\text{-IUdR}$.

3.6 Tumormeßplatz

Die in dem Tumor gebundene Gamma-Aktivität wurde an einem von PORSCHEN und FEINENDEGEN (186,189,191) entwickelten Tumormeßplatz täglich gemessen (Abb. 14 und Abb. 15).

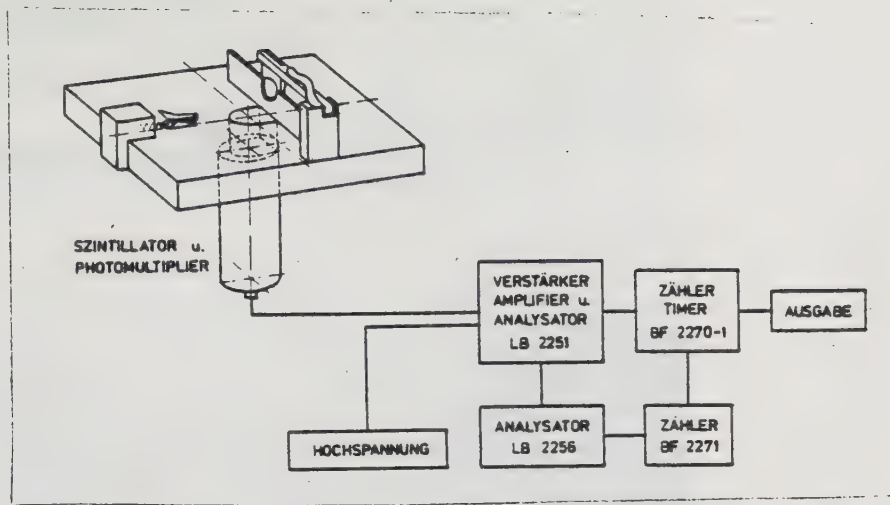


Abb. 14: Tumormeßplatz nach PORSCHEN und FEINENDEGEN.

Das Tumorbein wird über die Öffnung in einer Bleiplatte gebracht. Unter dieser Öffnung befindet sich ein Natrium-Jodid-Szintillationszähler, der die emittierten Gamma-Quanten der radioaktiven Jodisotope in elektrische Spannungsimpulse umwandelt, deren Impulshöhe von der Energie der Gamma-Quanten abhängt. Auf Grund der unterschiedlichen Gamma-Energien von 125-Jod und 131-Jod entstehen so zwei verschieden hohe Impulse, die nach linearer Verstärkung durch einen 2-Kanalimpulshöhenanalysator getrennt und zwei separaten Impulszählern zugeführt werden. Auf diese Weise werden die Gamma-Aktivitäten von 125-Jod und 131-Jod durch eine Messung getrennt erfaßt.

Da 131-Jod ein breiteres Energiespektrum enthält (vgl. 3.51) wird ein geringer Teil (ca. 8 %) der 131-Jod-Zerfälle im 125-Jod-Kanal mitgezählt. Dieser Anteil muß bei der Auswertung der Meßdaten berücksichtigt werden.

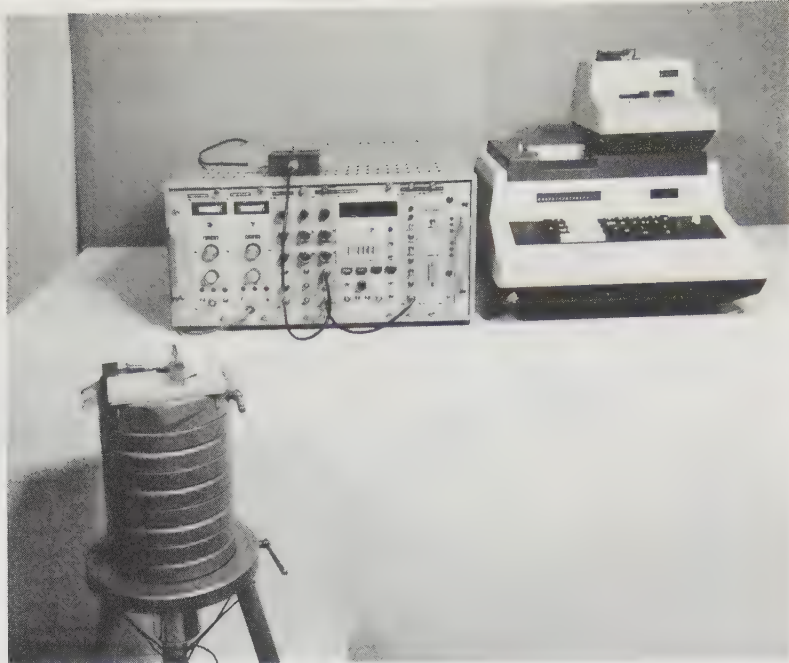


Abb. 15: Meßanordnung mit Szintillationszähler, Zweikanalimpulshöhenanalysator, Rechenmaschine und Lochstreifenstanzer.

3.7 Versuchsdurchführung

Vier bis fünf Tage nach der Implantation des Tumors (wenn das Tumolvolumen etwa 500 mm^3 erreicht hatte) wurde ^{125}I -IuDR injiziert. Zwei bis drei Tage später erfolgte die Injektion von ^{131}I -IuDR und ein Tag darauf die Tumorbehandlung wie in Abbildung 16 angegeben ist.

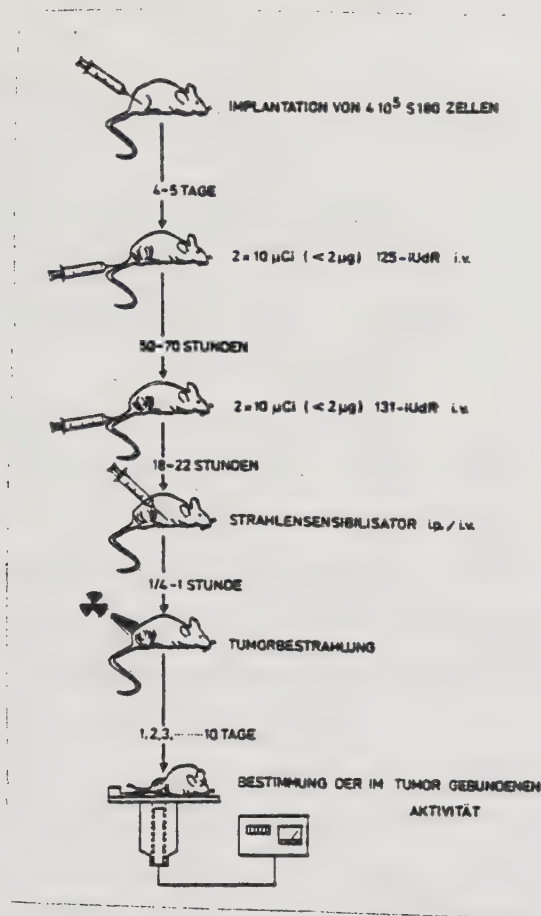


Abb. 16: Versuchsablauf mit Implantation, Markierung, Sensibilisierung und Bestrahlung des Tumors.

Mit den Aktivitätsmessungen wurde gewöhnlich ein Tag nach der letzten IUdR-Injektion begonnen und über 10 bis 12 Tage täglich fortgeführt. Die Meßzeit pro Tier betrug eine Minute. Jeweils 12 Tiere mit gleicher Behandlung bildeten eine Versuchsgruppe. Neben den verschieden behandelten Gruppen wurden in jedem Experiment unbehandelte Kontrollgruppen mitgeführt.

Parallel zu den Aktivitätsmessungen wurden die Tumorumlumina der Tiere gemessen. Tiere, die kein einheitliches Tumorstwachstum zeigten, wurden von dem Versuch ausgeschlossen. Die Gesamtzahl der untersuchten Tiere betrug etwa 1200.

3.8 Auswertung der Meßdaten

Die täglich gemessenen Zählraten der einzelnen Tiere erhielten folgende Korrekturen:

1. Abzug des Nulleffektes (verursacht durch kosmische Strahlung und Kontamination des Tumormeßplatzes)
2. Kanalkorrektur (131-Jod-Impulse, die im 125-Jod-Kanal mitgezählt werden)
3. Korrektur des natürlichen radioaktiven Zerfalls der Jodisotope.

Die so korrigierten Zählraten für 125-Jod und 131-Jod wurden für jedes einzelne Tier als Funktion der Zeit in halblogarithmischem Maßstab aufgetragen (Abb. 17).

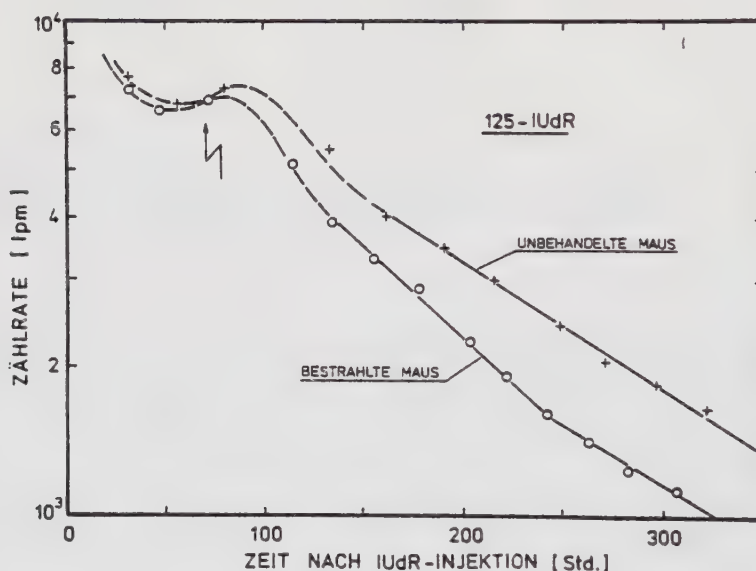


Abb. 17: Halblogarithmische Darstellung der Zählrate als Funktion der Zeit für eine unbehandelte und eine bestrahlte einzelne Maus.

Der Auswertung der gemessenen Zählrate liegen folgende Annahmen zugrunde:

1. Von den Tumorzellen wird eine unbekannte, aber definierte Menge an IUdR in die DNS eingebaut.
2. Das eingebaute IUdR geht nur bei Zelltod verloren.
3. Ein strahlungsinduzierter Schaden, der zum Zelltod führt, kann bis zu 10 Zellzykluszeiten erkannt werden.

Abbildung 17 zeigt den charakteristischen zeitlichen Verlauf der gemessenen Tumoraktivität einer unbestrahlten und einer bestrahlten Tumormaus.

In den ersten Stunden nach der IUdR-Injektion findet man einen raschen Abfall der gemessenen Aktivität. Im Bereich von 50 bis 100 Stunden kommt es zu einem Aktivitätsanstieg. Nach PITTMER (180) wird er verursacht durch Aktivität tragende Leuko- und Lymphozyten, die infolge von Immunprozessen und Abwehrreaktionen des Wirtstieres in den Tumor einwandern. Sie gehen zumindest teilweise im Tumorgebiet zugrunde, ihre Elimination überlagert diejenige der Tumorzellen.

Etwa 80 Stunden nach der IUdR-Injektion beginnt die Aktivität bei halblogarithmischer Darstellung in geradem Kurvenverlauf abzufallen. Das bedeutet, die Abnahme der Tumoraktivität folgt in diesem Bereich einem Exponentialgesetz:

$$A(t) = A_0 \cdot e^{-\lambda t}$$

Die Steigung dieses geraden Kurvenstückes ist ein direktes Maß für die Zellverlustrate λ der markierten Tumorzellen (29,180,186,189). Eine Gamma-Bestrahlung des Tumors führt zu einer steileren Neigung dieser Geraden und damit zu einer erhöhten Zellverlustrate. Die so bestimmte Zellverlustrate kann daher für die quantitative Erfassung der erzielten Bestrahlungseffekte in den markierten Tumorbereichen herangezogen werden.

Im Zeitraum jenseits von 250 Stunden nach der IUdR-Injektion verlaufen je nach Dosis die Kurven der bestrahlten und der unbestrahlten Maus wieder annähernd parallel; das bedeutet, daß die Auswirkungen der Gamma-Bestrahlung auf die Zellverlusten vorüber sind. Dieser Kurventeil kann daher für die Auswertung nicht mehr benutzt werden.

Die Bestimmung der Zellverlustrate erfolgte durch ein Computerprogramm, das die gemessenen Zählraten korrigierte und eine Exponentialkurvenanpassung nach dem kleinsten Fehlerquadrat durchführte. Von den Zellverlusten der einzelnen Tiere einer Versuchsgruppe wurde der Mittelwert und die Standardabweichung gebildet. Dabei wurden nur solche Tiere berücksichtigt, deren Zellverlusten das Chauvenet-Kriterium erfüllten. Dieses Kriterium dient zur Aussonderung extremer Meßwerte (139).

4. ERGEBNISSE

4.1 Messung der Effekte von elektronenaffinen Strahlensensibilisatoren

4.11 Wirkung eines elektronenaffinen Strahlensensibilisators auf die Zellverlustrate in euoxischen und hypoxischen Tumorbereichen

Abbildung 18 zeigt die auf 80 Stunden nach Bestrahlung normierte Aktivitätsretention von ^{125}J und ^{131}J .

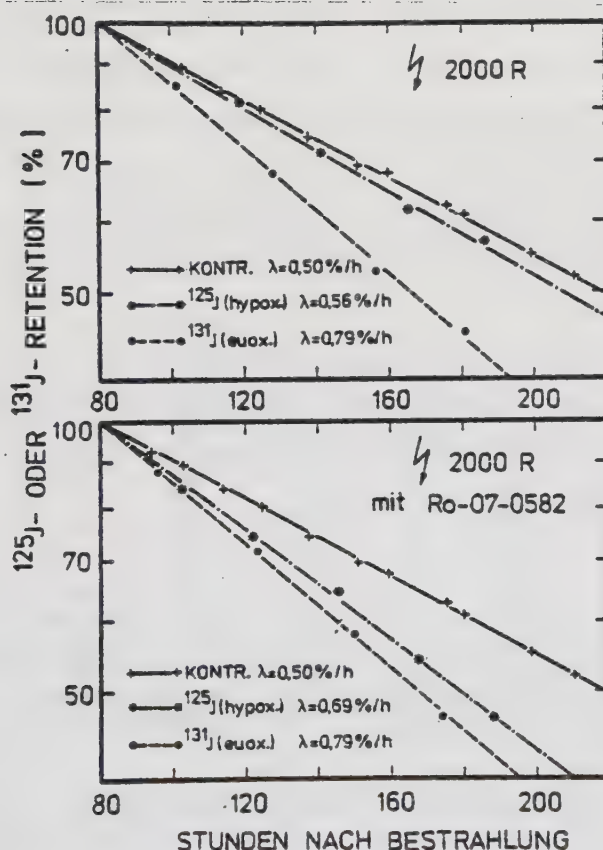


Abb. 18: Aktivitätsretention von ^{125}J und ^{131}J (Mittelwert von jeweils 10 Mäusen).
oben: nur Bestrahlung mit 2000 R
unten: Bestrahlung 2000 R kombiniert mit dem Sensibilisator Ro-07-0582, 500 mg/kg, 1/4 Std. vor Bestrahlung.

Die Bestrahlung mit 2000 R führt bei den mit 125-Jod markierten durchschnittlichen Tumorzellen zu einer wesentlich geringeren Aktivitätsabnahme im Vergleich zu den mit 131-Jod markierten oxischen Zellen (Abb. 18 oben). Es ist also eine klare Differenzierung der Strahlenwirkung in den verschiedenen markierten Bereichen möglich.

Die vergrößerte strahlungsinduzierte Erhöhung der Zellverlustrate (Steigungen der Geraden in Abb. 18) in den mit 131-Jod markierten Bereichen demonstriert die höhere Strahlenempfindlichkeit der euoxischen Zellen gegenüber den durchschnittlichen mit 125-Jod markierten Zellen, von denen ein großer Teil hypoxisch sein dürfte.

Durch Anwendung eines elektronenaffinen Strahlensensibilisators, hier das Nitroimidazol Ro-07-0582 erhöht sich deutlich die Aktivitätsabnahme und damit die Zellverlustrate der durchschnittlichen Tumorzellen. Die Zellverlustrate der euoxischen Zellen bleibt weitgehend unbeeinflusst.

Eine signifikante Erhöhung der Zellverlustrate bei den unbestrahlten Tieren auf Grund einer toxischen Wirkung von 500 mg/kg des Sensibilisators Ro-07-0582 konnte nicht festgestellt werden.

4.12 Vergleich der in vivo Wirksamkeit von verschiedenen Strahlensensibilisatoren für hypoxische Tumorzellen

Die Güte eines Sensibilisators wächst mit seiner Eigenschaft, die Strahlenempfindlichkeiten der hypoxischen Zellen und der euoxischen Zellen einander anzugleichen. Um ein relatives Maß für die Sensibilisierungsfähigkeit der geprüften Substanz zu bekommen, wurde das Verhältnis der auf die Kontrolle normierten Zellverlustraten aus

den hypoxischen und den euoxischen Markierungsbereichen gebildet.

$$\frac{\lambda^{\text{hypox}} / \lambda_{\text{Kontr}}^{\text{hypox}}}{\lambda^{\text{euox}} / \lambda_{\text{Kontr}}^{\text{euox}}} = \frac{\lambda_n^{\text{hypox}}}{\lambda_n^{\text{euox}}} = Q_z$$

Ein Wert von $Q_z = 1$ bedeutet somit gleiche Strahlenempfindlichkeit von hypoxischen und euoxischen Zellen, also maximale Sensibilisierung.

Die applizierte Menge und die gewählte Injektionsweise des Sensibilisators richtete sich nach Erkenntnissen, die an Hand von Literaturangaben (23,49,102,105,178,203) gewonnen wurden (Tabelle 1).

Abbildung 19 zeigt die Ergebnisse dieses Experimentes.

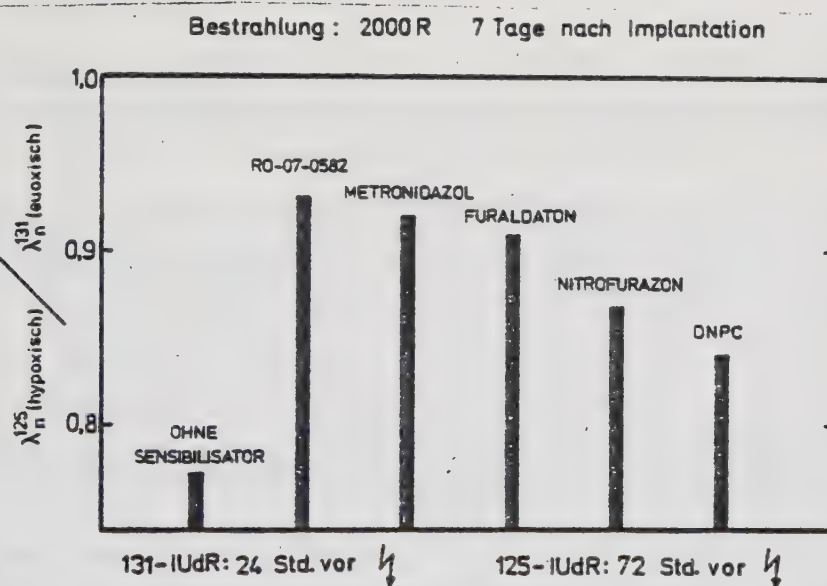


Abb. 19: Relative Sensibilisierungsfähigkeit verschiedener elektronenaffiner Strahlensensibilisatoren.

Das Verhältnis aus den Zellverlusten der hypoxischen und der euoxischen Tumorbereiche ergab bei reiner Gamma-Bestrahlung einen Wert von $Q_z = 0,77 \pm 0,08$. Dieses Verhältnis verbesserte sich durch die Anwendung der ver-

schiedenen Strahlensensibilisatoren folgendermaßen:

Sensibilisator	$Q_z \pm \epsilon$
Ro-07-0582	$0,93 \pm 0,10$
Metronidazol	$0,92 \pm 0,10$
Furaltadon	$0,91 \pm 0,10$
Nitrofurazon	$0,87 \pm 0,10$
DNPC	$0,84 \pm 0,09$

Die besten Resultate erbrachte das 2-Nitroimidazol Ro-07-0582, auf das sich die weiteren Untersuchungen konzentrierten.

4.13 Abhängigkeit der in vivo Wirksamkeit des Sensibilisators Ro-07-0582 vom Applikationszeitpunkt

Der Zeitpunkt der Applikation des Sensibilisators Ro-07-0582 variiert in der Literatur je nach Autor von 1 bis 1/4 Stunde vor der Bestrahlung (49,179,203,214, 215,257). Es wurden daher Versuche gemacht, in denen 500 mg/kg der Substanz Ro-07-0582 2 Stunden, 1, 1/2 1/4 Stunde vor der Bestrahlung und 1/4 Stunde nach der Bestrahlung injiziert wurden.

Wie aus Abbildung 20 hervorgeht, ließ sich der größte Sensibilisierungseffekt erzielen, wenn die Substanz Ro-07-0582 1/4 Stunde vor der Bestrahlung appliziert wurde.

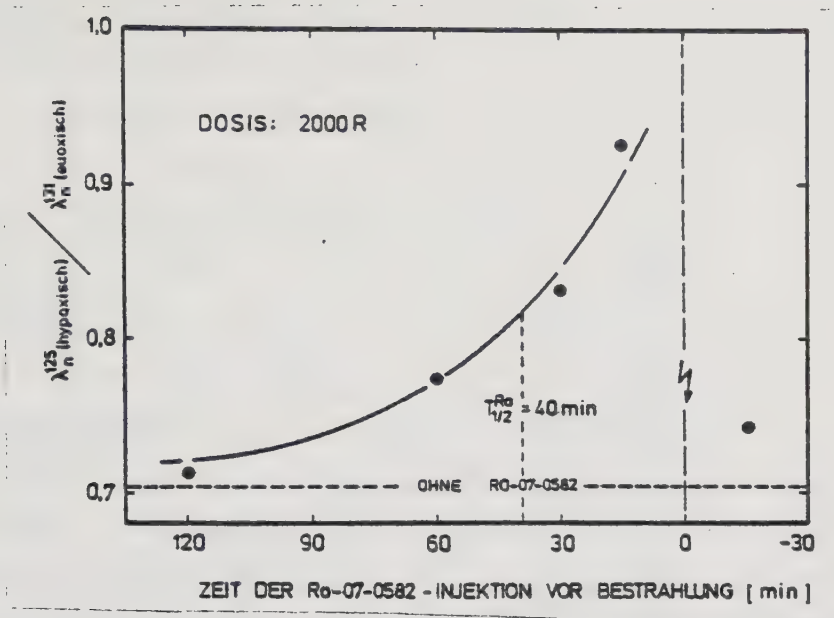


Abb. 20: Relatives Sensibilisierungsmaß in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt des Sensibilisators Ro-07-0582.

Eine Injektion 1/4 Stunde nach der Bestrahlung führte zu keinem nennenswerten Sensibilisierungseffekt.

Für die Substanz Ro-07-0582 läßt sich aus Abbildung 20 eine metabolische Halbwertszeit von $T_{1/2}^{Ro} = 40$ Minuten abschätzen.

4.14 Einfluß der Strahlensensibilisierung auf den Sauerstoffeffekt

Der Sauerstoff hat auf die Strahlenschädigung von Zellen eine dosismodifizierende Wirkung (94,146,249). Zur Abtötung einer bestimmten Zellzahl durch Gamma-Strahlen ist bei den hypoxischen Zellen eine um den Faktor 2,5 bis 2,8 höhere Strahlendosis erforderlich als bei den euoxischen Zellen (19,52,214). Zur Untersuchung des Einflusses einer Strahlensensibilisierung auf den Sauer-

stoffeffekt wurden die Tumoren mit zunehmender Gamma-Dosis bestrahlt und die strahleninduzierte Erhöhung der Verlustrate ($\Delta\lambda = \lambda^{\downarrow} - \lambda^{\text{Kontr.}}$) für euoxische und durchschnittliche Zellen bestimmt (Abb. 21 und 22).

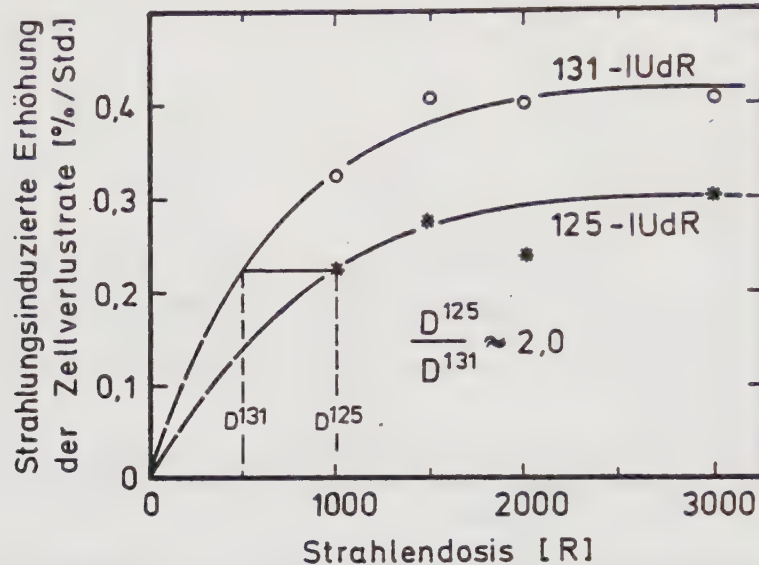


Abb. 21: Strahleninduzierte Erhöhung der Zellverlustrate als Funktion der Strahlendosis, nur Gamma-Bestrahlung.

Der Kurvenverlauf in Abbildung 21 zeigt oberhalb einer Gamma-Dosis von 1500 R eine zunehmende Verminderung der strahlungsinduzierten Erhöhung der Zellverlustrate. Als Ursachen hierfür kommen in Betracht:

1. Eine Erschöpfung des in vivo induzierbaren Strahlenschadens bei der verwendeten Dosisleistung von 250 R/min ("Overkill-Effekte").
2. Eine Begrenzung der IUdR-Ausscheidungsrate auf Grund beschränkter Abtransportmöglichkeiten (unzureichendes Kapillarsystem im Tumor, starke Nekrose).
3. Eine höhere Strahlendosis vergrößert zwar den Zeitraum, in dem eine erhöhte Zellverlustrate auftritt, steigert aber die Zellverlustrate selbst weniger.

Eine eindeutige Klärung dieser Erscheinung läßt sich aus den Meßdaten dieser Arbeit jedoch nicht herleiten.

Zwischen den mit 131 -Jod markierten oxischen Zellen und den mit 125 -Jod markierten durchschnittlichen Zellen ergibt sich bei etwa der Hälfte des Gesamteffektes ein dosismodifizierender Faktor (DMF) von etwa 2,0 (Abb. 21).

Dieser Faktor ist niedriger als der von in vitro Versuchen bekannte Sauerstoff-Faktor von 2,8. Dies erklärt sich aus der Tatsache, daß die Markierung mit 125 -IUdR sich auf die durchschnittlichen und nicht ausschließlich auf die rein hypoxischen Tumorzellen beschränkt. Zudem kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden, daß zum Zeitpunkt der Bestrahlung ein kleiner Teil der mit 131 -Jod markierten Zellen in hypoxische Bereiche gewandert ist.

In Abb. 22 sind die entsprechenden Dosiseffektkurven bei kombinierter Behandlung dargestellt. Hier wurden 500 mg/kg des Sensibilisators Ro-07-0582 1/4 Stunde vor der Bestrahlung injiziert. Der entsprechende dosismodifizierende Faktor beträgt nur noch 1,3.

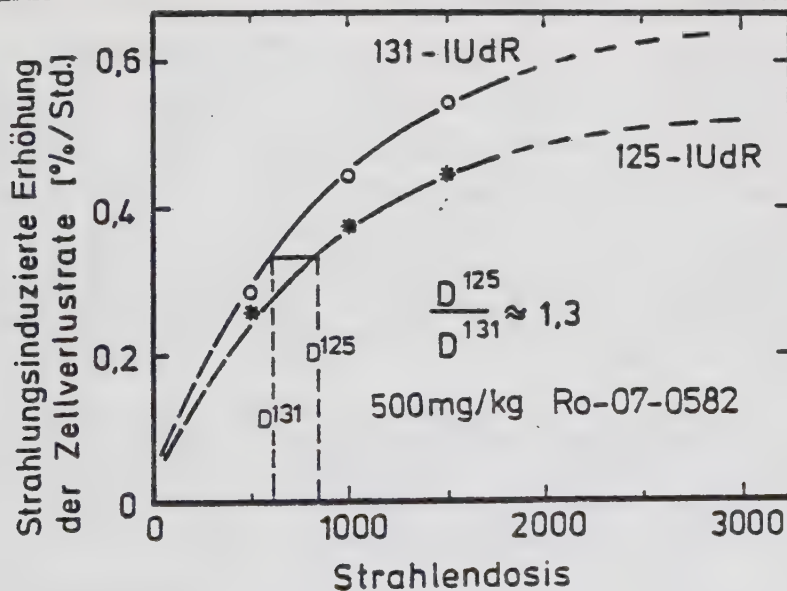


Abb. 22: Strahleninduzierte Erhöhung der Zellverlustrate als Funktion der Strahlendosis bei kombinierter Behandlung.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß die Verwendung des Strahlensensibilisators den unter in vivo Bedingungen gemessenen Sauerstoffeffekt von $DMF = 2,0$ auf $DMF = 1,3$, also um den Faktor 1,54, reduzierte.

4.15 Abhängigkeit der Bestrahlungs- und Sensibilisierungseffekte von der Tumorgroße

Da mit zunehmendem Tumorwachstum immer mehr Zellen von den Blutkapillaren abgedrängt werden, vergrößert sich der Anteil der hypoxischen Tumorzellen mit zunehmendem Tumolvolumen. Als Folge davon sollte sich das Ausmaß der Bestrahlungs- und Sensibilisierungseffekte mit zunehmendem Volumen des Tumors verändern.

Zur Untersuchung einer solchen Abhängigkeit wurden die Tumoren bereits 3 Tage nach ihrer Implantation mit $40\text{ }\mu\text{Ci}$ $^{125}\text{-IUdR}$ markiert. Durch die sehr frühe IUdR-Injektion ($V \approx 200\text{ mm}^3$) sollte eine gleichmäßige Markierung über den ganzen Tumor erreicht werden. Diese Annahme rechtfertigt sich durch Untersuchungen von BOSILJANOFF (29), der autoradiographisch an dem gleichen Tumorsystem zeigen konnte, daß bereits 72 Stunden nach der Tracer-Injektion eine praktisch homogene Verteilung der Aktivität über alle Tumorbereiche festzustellen ist.

Die injizierte Aktivitätsmenge wurde von $20\text{ }\mu\text{Ci}$ auf $40\text{ }\mu\text{Ci}$ erhöht, da bei dem kleinen Tumolvolumen eine niedrigere Einbaurate des IUdR in den rasch wachsenden Tumor zu erwarten war und die Aktivitätsmessungen über einen Zeitraum von 350 Stunden nach der Markierung durchgeführt werden sollten.

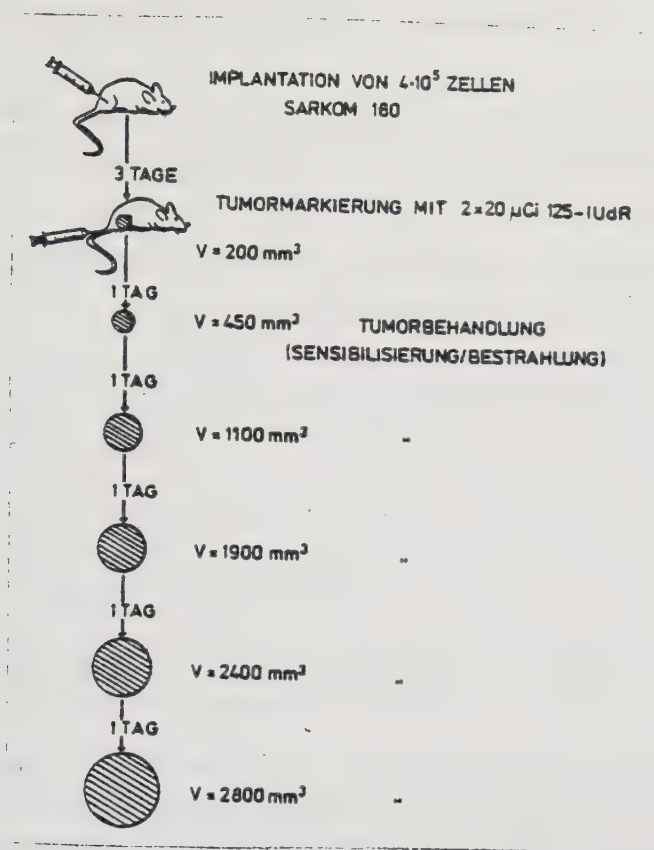


Abb. 23: Versuchsablauf zur Bestimmung der Behandlungseffekte in Abhängigkeit von der Tumorgröße.

An 5 Tagen nach der Tumormarkierung wurde jeweils eine Versuchsgruppe mit und ohne Sensibilisierung bestrahlt, so daß die Tumorbehandlung bei jeweils unterschiedlicher Tumorgröße erfolgte (Abb. 23). Es wurde eine Strahlendosis von nur 1000 R gewählt. Sie sollte möglichst wenige hypoxische Zellen schädigen, aber ausreichend sein, um möglichst viele euoxische Zellen abzutöten (siehe Abb. 21).

Die gemessenen Zellverlustraten der jeweils gleichmäßig über alle Zellfraktionen markierten Tumoren ist in Abbildung 24 in Abhängigkeit vom Tumolvolumen aufgetragen. Die Zellverlustraten sind hier also als Mittelwerte über alle Tumorbereiche zu verstehen.

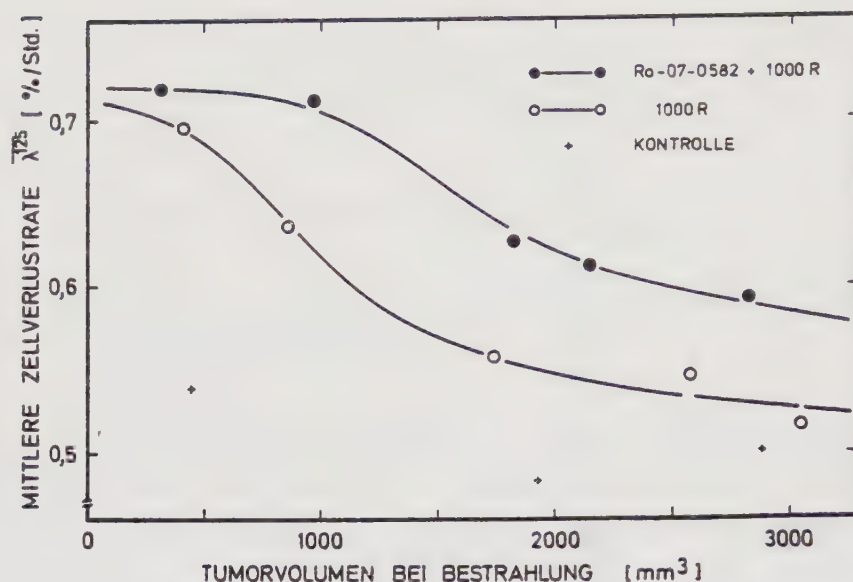


Abb. 24: Mittlere Zellverlustrate als Funktion des Tumorumvolumens.

Bei reiner Gamma-Bestrahlung fällt die mittlere Zellverlustrate schon bei einem Tumorumvolumen von 400 mm^3 deutlich ab. Das bedeutet, es treten zunehmend Zellen auf, die eine verringerte Zellverlustrate aufweisen. Sie können dem hypoxischen Anteil zugewiesen werden.

Die Kombination der Gamma-Bestrahlung mit einer Sensibilisierung führt zu einem deutlich abweichenden Kurvenverlauf: die hohe Zellverlustrate wird auch bei wesentlich größeren Tumoren noch beibehalten. Erst bei Tumorumvolumina von über 1000 mm^3 kommt es zu einem deutlichen Abfall der Zellverlustrate, jedoch werden die niedrigen Werte der reinen Gamma-Bestrahlung nicht erreicht.

Offensichtlich gelingt bei Tumoren bis zu einem Volumen von etwa 1000 mm^3 eine hinreichende Sensibilisierung der entstandenen hypoxischen Tumorzellen. Bei Tumoren über 1000 mm^3 Volumen scheinen große Bereiche des Tumors von der Strahlensensibilisierung nicht mehr erfaßt zu werden.

4.2 Abschätzungen unter Verwendung eines Tumormodells

Die Sauerstoffversorgung bestimmt entscheidend das Verhalten der Tumor-Zellverlustraten nach einer Gamma-Bestrahlung. Wenn sie eine Funktion des Abstandes der Zellen zur nächsten Blutkapillare ist, sollte es nützlich sein, eine Darstellung zu gewinnen, in der die Zellverlustrate der bestrahlten Tumorzellen in Abhängigkeit von Ihrem Kapillarabstand angegeben wird. Dazu wurde ein geeignetes Tumormodell entwickelt.

4.21 Entwicklung eines Tumormodells

Folgende Annahmen werden gemacht:

1. Die Abstände zwischen den benachbarten Blutkapillaren in einem Tumor lassen sich repräsentieren durch einen mittleren Kapillarabstand a (Abb. 25).

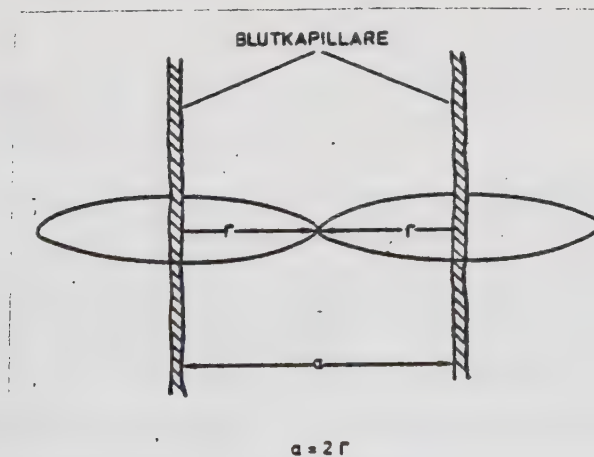


Abb. 25: Mittlerer Abstand zweier Blutkapillaren in einem Tumor.

Diese Annahme bedeutet eine starke aber notwendige Vereinfachung; durch sie wird die sehr komplexe Struktur des Blutkapillarsystems im Tumor umgangen.

Es läßt sich dann eine mittlere radiale Entfernung r definieren, die eine Tumorzelle maximal bis zur nächsten Blutkapillare haben kann. Es gilt:

$$r = a/2 \quad (1)$$

2. Es besteht eine unbekannte, aber lineare Beziehung zwischen dem mittleren Abstand a zweier Blutkapillaren und dem äußeren Tumordurchmesser $\varnothing$ (Abb. 26).

$$a \sim \varnothing \quad (2)$$

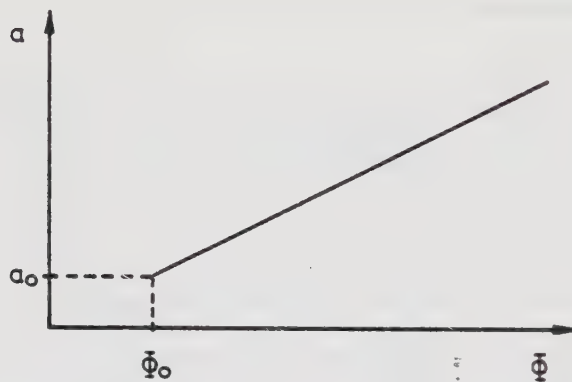


Abb. 26: Proportionalität zwischen Tumordurchmesser $\varnothing$ und mittlerem Kapillarabstand a .

Die angenommene lineare Beziehung zwischen $\varnothing$ und a ermöglicht es, Funktionen des meßbaren Tumordurchmessers $\varnothing$ als Funktionen vom mittleren Kapillarabstand a (und damit auch von r) zunächst qualitativ darzustellen.

3. Dem Durchmesser $\varnothing_0$ des gesunden Gewebes am Bein einer Maus entspricht ein mittlerer Abstand a_0 der Blutkapillaren im gesunden Gewebe. Dabei muß berücksichtigt werden, daß bei der Bestimmung des Durchmessers stets Knochen und Haut mitgemessen werden.

Es ist:

$$\phi_g = \phi_o + \phi^* \quad (3a)$$

mit ϕ_g : gesundes Bein; ϕ_o : gesundes Gewebe;

ϕ^* : Knochen + Haut

Für den Tumor gilt

$$\phi = \phi_T + \phi^* \quad (3b)$$

mit ϕ : Tumorbein; ϕ_T : Tumor

Für $\phi_T > \phi_o$ gelte

$$\frac{r}{r'_o} = c \cdot \frac{\phi_T}{\phi_o} \quad (4)$$

wobei $r'_o = a_o/2$; die Konstante c beschreibt das unbekannte Wachstumsverhältnis zwischen dem Blutkapillarsystem und dem äußeren Tumordurchmesser.

Definiert man $r_o = c \cdot r'_o$ (5)

so können Funktionen des radialen Abstandes r der Zellen von der Kapillaren in Einheiten von r_o dargestellt werden, wobei r_o die um das Wachstumsverhältnis c veränderte Einheit des halben mittleren Kapillarabstandes im gesunden Gewebe darstellt.

4.22 Abhängigkeit der Behandlungseffekte vom Abstand der Tumorzellen zu den Blutkapillaren

In Abbildung 25 (Kapitel 4.15) ist die mittlere Zellverlustrate als Funktion des Tumolvolumens V aufgetragen. Da das Volumen V aus dem Tumordurchmesser ϕ berechnet wurde (vgl. 3.2), läßt sich mit Gleichung (4) eine r -abhängige Darstellung gewinnen (Abb. 27).

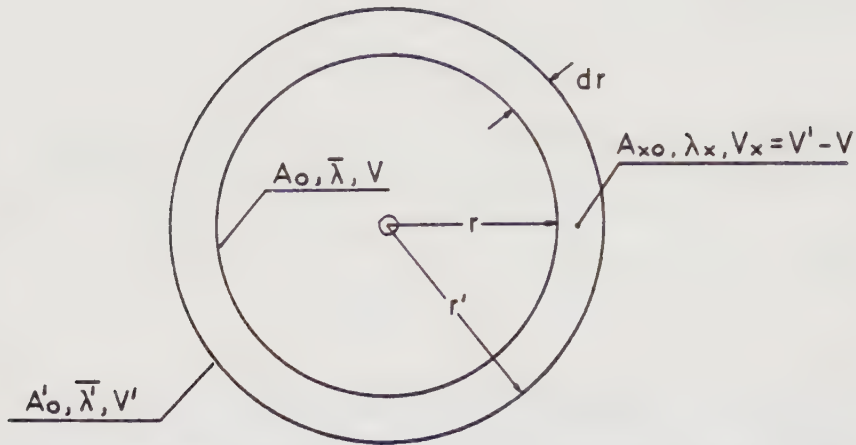


Abb. 27: Vergrößerung des Abstandes r der Zellen zu der Blutkapillare durch Tumorstadium.

Für ein Volumen mit dem entsprechenden radialen Abstand r ist die mittlere Zellverlustrate $\bar{\lambda}$ Ausdruck des Verhaltens euoxischer Zellen. Ein geringfügiges Wachstum des Tumors vergrößert r um dr auf r' .

$$r' = r + dr$$

Die Zellen in dem Ringgebiet dr haben einen vergrößerten Abstand zur Blutkapillare; dadurch kann sich ihre Sauerstoffversorgung verschlechtern, was zu einer verringerten Strahlenempfindlichkeit führt, so daß ihre Zellverlustrate λ_x kleiner sein wird als die der übrigen Zellen. Die mittlere Zellverlustrate des vergrößerten Tumors sinkt dadurch von $\bar{\lambda}$ auf $\bar{\lambda}'$. Die Werte von $\bar{\lambda}$ und $\bar{\lambda}'$ werden im Experiment gemessen. Die lokale Zellverlustrate λ_x der Zellen in dem schmalen Ringgebiet dr berechnet sich durch den Ansatz:

$$A'(t) = A'_0 e^{-\bar{\lambda}' t} = A_0 e^{-\bar{\lambda} t} + A_{x0} e^{-\lambda_x t} \quad (6)$$

wobei $A'(t)$ die Gesamtaktivität des Tumors zur Zeit t ist und A'_0 , A_0 , A_{x0} die Anfangsaktivitäten zur Zeit $t = 0$

(Zeitpunkt der Behandlung) bedeuten.

Mit $A'_0 = A_0 + A_{x0}$ gewinnt man aus Gleichung (6):

$$A_0 e^{-\bar{\lambda}' t} + A_{x0} e^{-\bar{\lambda}' t} = A_0 e^{-\bar{\lambda} t} + A_{x0} e^{-\lambda_x t} \quad (7)$$

Auflösung nach λ_x ergibt:

$$\lambda_x = \frac{1}{t} \ln \left(\frac{A_0}{A_{x0}} (e^{-\bar{\lambda}' t} - e^{-\bar{\lambda} t}) + e^{-\bar{\lambda}' t} \right) \quad (8)$$

Dabei ist $\bar{\lambda}$ und $\bar{\lambda}'$ aus Abbildung 24 bekannt, und A_0/A_{x0} ergibt sich bei gleichmäßiger Markierungsdichte im Tumor durch:

$$A_0/A_{x0} = V/(V'-V) \quad (9)$$

Aus den Kurven in Abbildung 24 wurde λ_x stückweise mit Hilfe von Gleichung (8) und (9) berechnet und V mit Gleichung (4) durch r/r_0 substituiert und so eine Darstellung der örtlichen Zellverlustrate als Funktion des Abstandes von der Kapillare gewonnen (Abb. 28).

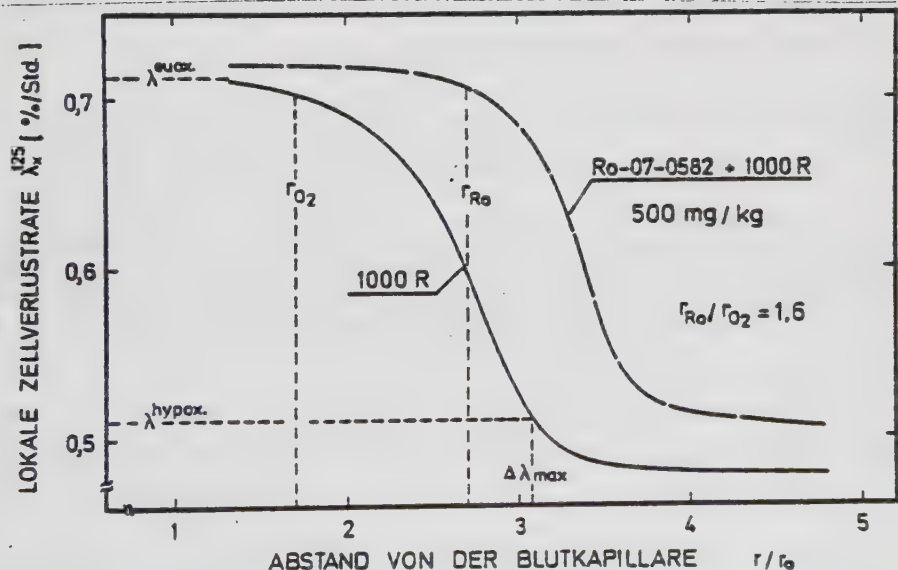


Abb. 28: Lokale Zellverlustrate nach Tumorbehandlung mit und ohne Sensibilisator Ro-07-0582 als Funktion des Abstandes von der Blutkapillare.

Der Abstand von der Blutkapillare ist hier in Einheiten von r_0 angegeben, für $c=1$ ist nach Gleichung (5) r_0 der halbe mittlere Abstand zweier Kapillaren im gesunden Gewebe. Abbildung 28 zeigt bei reiner Bestrahlung einen deutlichen Abfall der Zellverlustrate bereits in einem Abstand von $1,7 r_0$. Hier haben sich offensichtlich schon hypoxische Zellen gebildet. Die Zellverlustrate sinkt bis etwa $3 r_0$ steil ab und erreicht dann sehr plötzlich einen relativ konstanten Wert, der etwa dem Wert der unbehandelten Kontrolle entspricht (Abb. 24). Es ist daher anzunehmen, daß in einem Abstand von größer als $3,2 r_0$ die Hypoxie maximal ist und auch Nekrose beginnen dürfte (22,223,224,245).

Die Kombination der Bestrahlung mit einer Sensibilisierung durch Ro-07-0582 verhindert einen stärkeren Abfall der Zellverlustrate bis zu einem Kapillarabstand von etwa $2,7 r_0$. Offenbar gelingt eine vollständige Sensibilisierung nur bis zu diesem Abstand.

Es folgt dann ein ähnlicher Kurvenverlauf wie bei der reinen Bestrahlung, jedoch erscheint die irreversible hypoxische Reaktion im Ausmaß geringer und beginnt erst bei größeren Abständen von den Kapillaren. Dies dürfte Ausdruck des Beginns von Nekrose sein.

Bildet man die Differenz der lokalen Zellverlustrate λ_x von kombinierter Behandlung und reiner Bestrahlung, so erhält man ein Maß für den erreichten Sensibilisierungseffekt. In Abbildung 29 ist der Sensibilisierungseffekt in Abhängigkeit vom Abstand zur Blutkapillare aufgetragen.

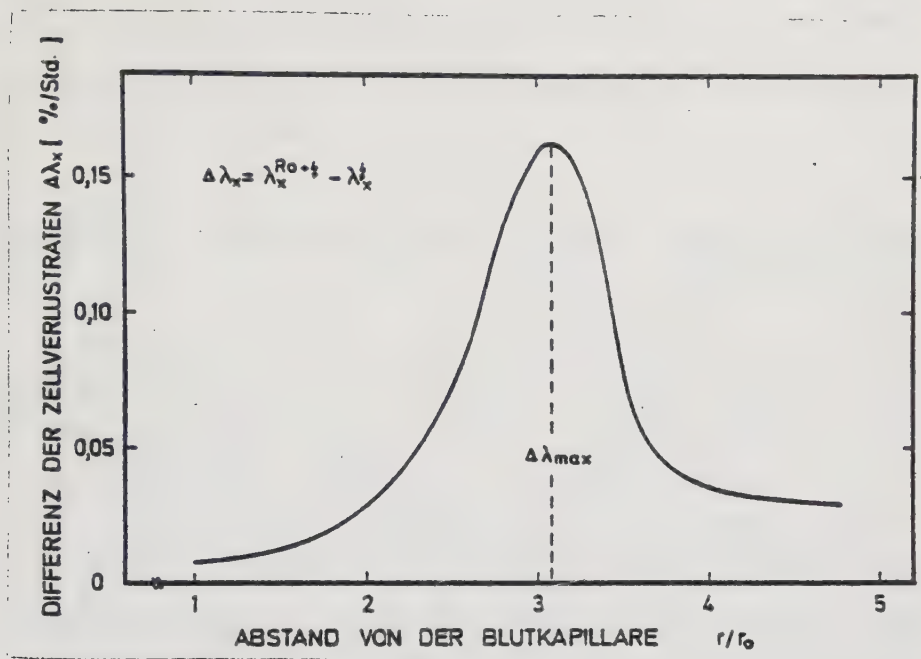


Abb. 29: Sensibilisierungseffekt (Differenz der Zellverlustraten von kombinierter Behandlung und reiner Bestrahlung) als Funktion des Abstandes der Zellen zur Blutkapillare.

Bis zu einem Abstand von etwa $1,5 r_0$ ist der Sensibilisierungseffekt äußerst klein. Da bis zu dieser Entfernung von der Blutkapillare die Zellen noch vorwiegend als euoxisch anzusehen sind, bestätigt dies die Feststellung aus Kapitel 4.11 daß Ro-07-0582 die euoxischen Zellen praktisch nicht sensibilisiert.

Der steile Kurvenanstieg bis etwa $3 r_0$ bedeutet, daß mit zunehmender Hypoxie der Tumorzellen die Auswirkung der Strahlensensibilisierung sich vergrößert.

Für den anschließenden steilen Abfall des Sensibilisierungseffektes oberhalb von $3 r_0$ lassen sich zwei mögliche Ursachen anführen:

1. Die bereits erwähnte maximale Hypoxie führt zu Nekrose und verhindert zunehmend die Erzeugung von Strahlenschäden in Tumorbereichen oberhalb einer Kapillarentfernung von $3 r_0$.

2. Die Diffusionsreichweite des Strahlensensibilisators Ro-07-0582 ist so weit begrenzt, daß oberhalb von $3 r_0$ eine Sensibilisierung nicht mehr möglich wird.

4.23 Anteil der hypoxischen Zellen am Gesamttumor als Funktion der Tumorgröße

Die Messungen der Bestrahlungs- und Sensibilisierungseffekte (Kapitel 4.15) zeigen, daß die Hypoxie des Tumors mit größerem Tumolvolumen zunimmt. Mit Hilfe des Tumormodells aus Kapitel 4.21 und den Ergebnissen der Zellverlustatenmessungen kann eine Abschätzung über den jeweiligen hypoxischen Anteil am Tumor gemacht werden.

Auf Grund von Abbildung 28 wird den euoxischen Zellen die maximale Zellverlustrate von 0,71 %/Std. zugewiesen. Die Zellen, die nach Abbildung 29 die größten Sensibilisierungseffekte zeigen, werden als hypoxisch definiert. Ihnen wird in Abbildung 28 die entsprechende Zellverlustrate von 0,51 %/Std. zugewiesen.

Es wird die vereinfachende Annahme gemacht, daß die Tumorbereiche, die eine Zellverlustrate zwischen dem euoxischen und dem hypoxischen Wert aufweisen, sich zusammensetzen aus rein euoxischen und rein hypoxischen Zellen, so daß

$$\lambda = \frac{N^{\text{euox}}}{N} \cdot \lambda^{\text{euox}} + \frac{N^{\text{hypox}}}{N} \cdot \lambda^{\text{hypox}} ;$$

Mit $\frac{N^{\text{euox}}}{N} + \frac{N^{\text{hypox}}}{N} = 1$ kann der hypoxische Anteil $\frac{N^{\text{hypox}}}{N}$ am Gesamttumor bestimmt werden. Für verschiedene Tumolvolumina ergibt sich die in Abbildung 30 gezeigte Darstellung.

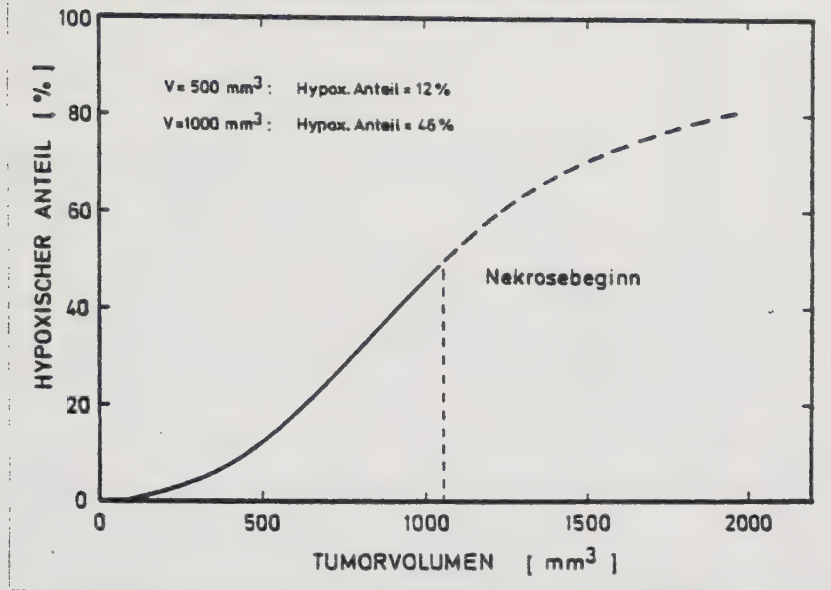


Abb. 30: Anteil der hypoxischen Zellen am Gesamttumor als Funktion des Tumolvolumens.

Bei einem Tumolvolumen von 500 mm^3 ergibt sich ein hypoxischer Anteil von etwa 12 %. Bei dem doppelten Tumolvolumen (1000 mm^3) findet man einen hypoxischen Anteil von etwa 46 %.

4.3 Einfluß von Bestrahlung und Sensibilisierung auf das Tumorstadium

Die Existenz von Tumorzellen mit unterschiedlicher Strahlenempfindlichkeit muß sich auch auf das Verhalten des Tumorstadiums nach einer Bestrahlung auswirken.

Aus Abbildung 31 geht hervor, daß der Zeitpunkt der Bestrahlung und damit die Größe des Tumors entscheidend den Bestrahlungserfolg beeinflusst.

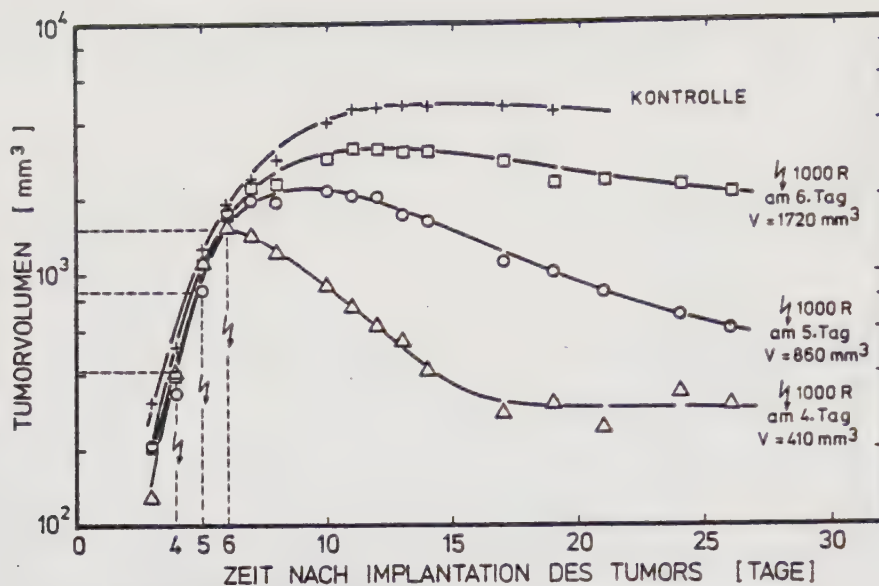


Abb. 31: Einfluß des Bestrahlungszeitpunktes auf die Tumorentwicklung.

Eine frühe Bestrahlung bei kleinem Tumolvolumen führt zu einer deutlichen Tumorrückbildung, die bei größerem Tumolvolumen durch das Auftreten von strahlenresistenten Zellen offensichtlich verhindert wird.

Durch Kombination der Bestrahlung mit einer Sensibilisierung wird die Tumorrückbildung von größeren Tumoren stärker begünstigt als die von kleinen Tumoren (Abb. 32).

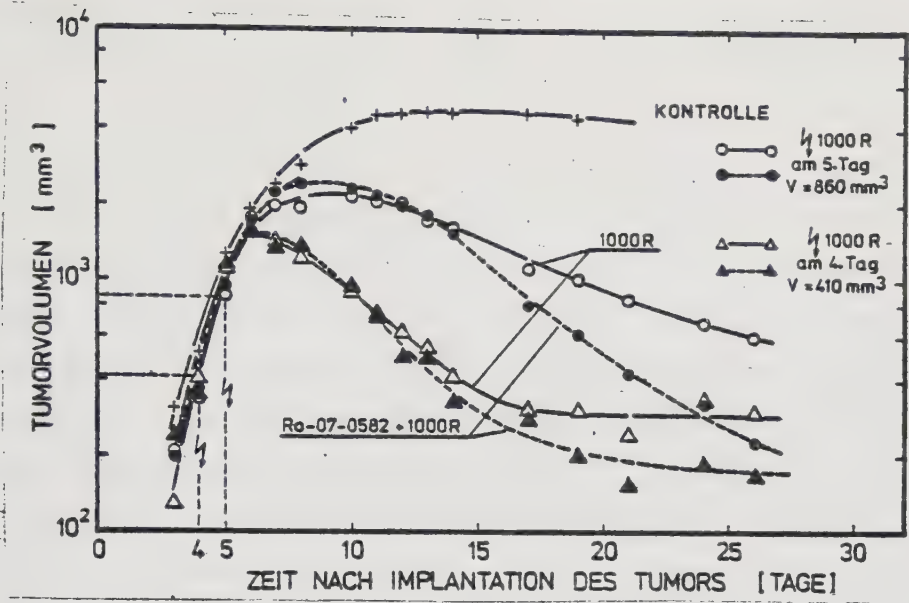


Abb. 32: Einfluß der Strahlensensibilisierung mit Ro-07-0582 auf die Tumorentwicklung bei Behandlung am 4. Tag bzw. am 5. Tag nach der Implantation des Tumors.

Die Zellverluststratenmessungen (Kapitel 4.1) haben gezeigt, daß dieser Effekt auf die Strahlensensibilisierung der hypoxischen Zellen zurückzuführen ist.

Abbildung 33 zeigt die relative Tumorentwicklung bei gleichem Ausgangsvolumen nach Bestrahlung mit verschiedenen Dosen und unter Verwendung des Sensibilisators Ro-07-0582.

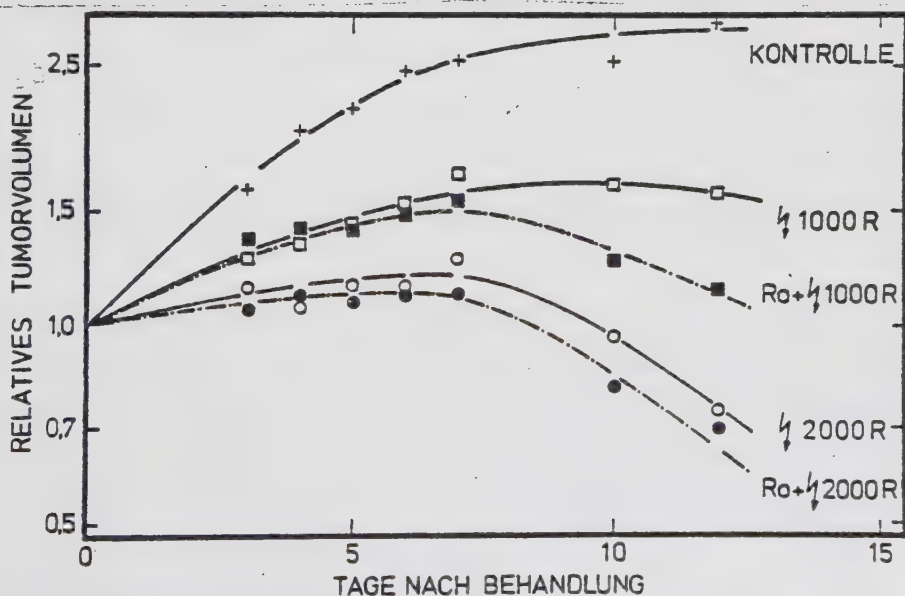


Abb. 33: Relatives Tumolvolumen als Funktion der Zeit nach Behandlung mit verschiedenen Strahlendosen.

Der günstige Einfluß der Strahlensensibilisierung auf die Tumorentwicklung verringert sich bei Erhöhung der Strahlendosis von 1000 R auf 2000 R.

Um ein quantitatives Maß für die Wirkung der Behandlung auf das Tumorwachstum zu erhalten, wurde 12 Tage nach der Bestrahlung das Tumolvolumen der behandelten Tiere betrachtet. Ein Tumor wurde dann als "kontrolliert" bezeichnet, wenn sein Volumen kleiner geworden war als am Tag der Behandlung. Zwischen den kontrollierten Tumoren und der verwendeten Strahlendosis ergibt sich die in Abbildung 34 dargestellte Beziehung.

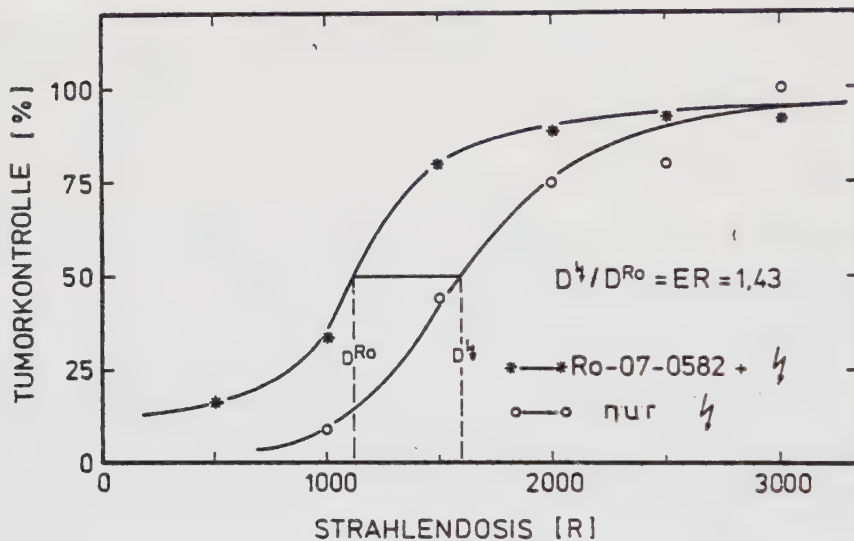


Abb. 34: Tumorkontrollkurve mit und ohne Anwendung des Strahlensensibilisators Ro-07-0582.

Um 12 Tage nach der Behandlung 50 % der Tumoren zu kontrollieren, ist bei Kombination der Bestrahlung mit dem Sensibilisator Ro-07-0582 eine um den Faktor $ER = 1,43$ (Enhancement Ratio) geringere Strahlendosis erforderlich als bei der reinen Bestrahlung.

5. DISKUSSION

5.1 Diskussion der Methode

Eine klinische Anwendung der chemotherapeutischen Strahlensensibilisierung erfordert den Nachweis der Effekte unter in vivo Bedingungen.

Das hier angewandte Verfahren der Zellverlustratenbestimmung durch externe Messung der Radioaktivität ermöglicht eine quantitative Erfassung zellulärer Effekte im lebenden Organismus und ohne Eingriff in die Tumor-Wirt-Beziehung. Aus der Aktivitätsretention in den markierten Tumorbereichen wird auf die Zellverlustrate der markierten Zellen geschlossen. Dieser Schluß beruht auf der Feststellung, daß DNS-gebundenes IUdR nur bei Zelltod verloren geht (46,136) und die Wiederverwertung minimal ist (80,82). Zwar kann infolge von Reparaturvorgängen nach Strahlenschäden an der DNS einer überlebenden Zelle IUdR freigesetzt werden (53,168,176), doch sind bei Säugetierzellen die auftretenden Mengen äußerst gering (53). Wegen des nur 5 %-igen IUdR-Einbaus in die DNS ist auch eine eventuelle Wiederverwertung von freigesetztem IUdR vernachlässigbar klein. Biochemische Analysen haben gezeigt, daß die extern gemessene Tumoraktivität der DNS-gebundenen Aktivität im Tumor entspricht (189,191).

Durch die Doppelmarkierung des Tumors mit den Isotopen 125-Jod und 131-Jod gelingt eine Differenzierung zwischen zwei Zellpopulationen. Wie BOSILJANOFF (29) autoradiographisch zeigen konnte, besteht die eine Zellpopulation aus kapillarnahen Zellen (131-Jod), die andere aus Zellen, die über den Gesamttumor gleichmäßig verteilt sind (125-Jod). Ihnen wurden vorwiegend euoxische bzw. hypoxische Zustände zugeordnet. Eine solche Zuordnung wird in dieser Arbeit gerechtfertigt durch die klaren Unterschiede der Bestrahlungs- und Sensibilisierungseffekte, die in diesen beiden Tumorarealen erzielt wurden (Kap. 4.1).

Der relativ niedrige Wert für den Sauerstoffeffekt in Kapitel 4.14 (Abb. 21) deutet darauf hin, daß erwartungsgemäß eine gewisse Überlappung der Zustände der verschiedenen markierten Zellpopulationen vorliegt.

Der wesentliche Vorteil des hier verwendeten Meßverfahrens liegt darin, daß in vivo die Auswirkung der Strahlensensibilisierung in den euoxischen und den hypoxischen Zellfraktionen des jeweiligen Tumors gleichzeitig gemessen werden kann. Die euoxischen bzw. hypoxischen Bedingungen brauchen also nicht künstlich geschaffen zu werden. Das Verhältnis der Zellverlustraten aus den hypoxischen und den euoxischen Tumorearealen (Kapitel 4.12 und 4.13) ist somit ein realistisches Maß für den in vivo erzielten Sensibilisierungseffekt. Dieses Verhältnis der Zellverlustraten wies innerhalb einer Versuchsgruppe von 12 Tieren eine Standardabweichung von 11 % auf und war damit kleiner als die Standardabweichung der einzelnen Zellverlustraten mit fast 14 %. Dieser Unterschied erklärt sich aus den individuell verschiedenen Reaktionen der Tiere auf den Tumor. So führt der Aktivitätsabfall des im Tumor gebundenen IUdR zu einem recht eindeutigen Kurvenverlauf, wie Abbildung 17 zeigt, doch ergeben sich beträchtliche Unterschiede in dem Verhalten gleichbehandelter Tiere, was zu der relativ hohen Standardabweichung der über die Gruppe gemittelten Zellverlustraten führt. Die Meßergebnisse zeigen jedoch, daß klare Tendenzen festzustellen sind, aus denen sich wertvolle Erkenntnisse über die in vivo Wirksamkeit von Strahlensensibilisatoren ergeben.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.21 Strahlensensibilisierung in vivo durch elektronenaffine Substanzen

Die angestrebte Verbesserung der herkömmlichen Strahlentherapie durch eine Strahlensensibilisierung beruht auf dem Abbau der Strahlenresistenz der hypoxischen Zellen ohne zusätzliche Schädigung der euoxischen Zellen.

In dieser Arbeit konnte am lebenden Organismus gezeigt werden, daß eine solche Verbesserung der Strahlentherapie durch Anwendung elektronenaffiner Sensibilisatoren möglich ist (Kap. 4.11, Abb. 18).

Aus den zahlreichen Substanzen, die in den letzten Jahren für eine Strahlensensibilisierung vorgeschlagen wurden, wurden 5 elektronenaffine organische Verbindungen ausgewählt und ihre in vivo Wirksamkeit vergleichend gemessen. Die Ergebnisse von Kapitel 4.12 zeigen, daß alle 5 Substanzen in der Lage sind, die Strahlenempfindlichkeit der hypoxischen Zellen relativ zu den euoxischen Zellen unter in vivo Bedingungen zu erhöhen.

Den größten Sensibilisierungseffekt erbrachte hier das 2-Nitroimidazol Ro-07-0582. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den Resultaten anderer Autoren (2,19,38,52,179,203), die unterschiedliche Testverfahren angewandt haben. Es ist dabei jedoch zu berücksichtigen, daß die optimale Wirksamkeit eines Sensibilisators von verschiedenen Parametern abhängig ist, wie z.B. von Zeitpunkt und Art der Applikation, der applizierten Menge, verwendeten Strahlendosis, Art der verwendeten Tiere und des Tumors, sowie der Toxizität.

So zeigen die beiden Nitrofurane Furaltadon und Nitrofurazon eine gute in vivo Wirksamkeit bereits bei niedrigen Konzentrationen im Vergleich zu ihrer LD₅₀ (Tabelle 1), was bei einer klinischen Anwendung dieser Sensibilisatoren von Be-

deutung ist. Die schlechte Wasserlöslichkeit der beiden Nitrofurane erschwerte jedoch die Injektion höherer Konzentrationen im Tierversuch erheblich (202).

Eine sehr hohe Wasserlöslichkeit zeigten dagegen die beiden Nitroimidazole Metronidazol und Ro-07-0582. Klinische Untersuchungen (55,253) mit dem pharmakologisch bereits bekannten 5-Nitroimidazol Metronidazol ergaben, daß eine Einzeldosis von 180 mg/kg (p.o.) beim Menschen zu einer Serumhöchstkonzentration von 400 - 800 μ Mol führt. Im Tierversuch mit Mäusen erbrachte eine solche Metronidazol-Serumkonzentration für Gamma-Strahlen einen dosismodifizierenden Faktor von $ER = 1,2$ (55,202,226). Eine Steigung dieses Faktors durch eine Erhöhung der verabreichten Metronidazolmenge ist sicherlich noch möglich, doch wird sie begrenzt durch die Toxizität dieser Substanz. 300 mg/kg Metronidazol führen beim Menschen zu stärkeren Übelkeitserscheinungen (55).

Die Hoffnungen konzentrieren sich daher auf die höhere Wirksamkeit des 2-Nitroimidazols Ro-07-0582 und auf die Suche nach neuen noch effektiveren Substanzen.

Die Untersuchung der in vivo Wirksamkeit des Sensibilisators Ro-07-0582 in Abhängigkeit vom Injektionszeitpunkt (Kap. 4.13) ergibt den größten Sensibilisierungseffekt bei Injektionen 15 Minuten vor der Bestrahlung. Eine Injektion 15 Minuten nach der Bestrahlung ist nahezu unwirksam. Sehr entscheidend ist offenbar die während der Bestrahlung in den hypoxischen Zellfraktionen des Tumors vorliegende Konzentration des Sensibilisators, die von seiner Diffusionsfähigkeit und seiner metabolischen Halbwertszeit abhängig ist.

Untersuchungen von ASQUITH, (1974) (18) mit dem der Substanz Ro-07-0582 sehr ähnlichen 5-Nitroimidazol, dem Metronidazol, haben ergeben, daß 15 Minuten nach der Injektion (i.p.) von Metronidazol im Tumor die höchste Konzentration erreicht wird.

Das hier gefundene Ergebnis steht allerdings im Widerspruch zu Untersuchungen von STONE, (1975) (227), der als günstigsten Injektionszeitpunkt 30 Minuten vor der Bestrahlung angibt.

Die Tatsache, daß eine Applikation des Sensibilisators nach der Bestrahlung keinen wesentlichen Effekt mehr erzeugt, läßt darauf schließen, daß schnell ablaufende chemische Reaktionen des Sensibilisators mit den Bestrahlungsprodukten zu einem erhöhten Strahlenschaden bei den hypoxischen Zellen führen. Mit einer besonderen Rapid-Mixing-Technik konnte ADAMS, (1975) (9) an Zellkulturen zeigen, daß die für die Sensibilisierung verantwortlichen Reaktionen sowohl beim Sauerstoff als auch beim elektronenaffinen Sensibilisator im Bereich von Millisekunden ablaufen. Das deutet darauf hin, daß die sensibilisierende Wirkung der elektronenaffinen Substanzen auf einer Imitation von Eigenschaften des Sauerstoffs beruht.

Im Kapitel 4.14 dieser Arbeit wurde gezeigt, daß durch die Anwendung des elektronenaffinen Sensibilisators Ro-07-0582 der Sauerstoffeffekt um einen Faktor 1.54 verringert wird. Der Strahlensensibilisator muß also von den Blutkapillaren weiter in den Tumor diffundiert sein, als dies der Sauerstoff vermochte. Dies verdeutlicht eine Untersuchung von SUTHERLAND, (1973) (233), der autoradiographisch nachweisen konnte, daß der Sensibilisator Nitrofurazon bis in die hypoxischen Tumoreareale vordringt. So erklärt sich auch das Ergebnis von Kapitel 4.15, wo die auf Grund von hypoxischen Zellen verringerte Strahlenempfindlichkeit des Gesamttumors durch eine Strahlensensibilisierung mit der Substanz Ro-07-0582 bis zu einem Tumolvolumen von etwa 1000 mm^3 kompensiert werden konnte. Betrachtet man auch den Sauerstoff als Strahlensensibilisator, so liegt der entscheidende Vorteil der Substanz Ro-07-0582 gegenüber dem Sauerstoff in seiner größeren Diffusionsreichweite

von den Blutkapillaren in den Tumor. Als Ursache ist vor allem der geringere Metabolismus von Ro-07-0582 durch die Zellen anzunehmen, der beim Sauerstoff besonders hoch ist (7).

5.22 Tumormodell und Diffusionsradius

Wenn die Hypoxie eines Tumors eine Funktion des mittleren Abstandes seiner Blutkapillaren ist (241,245), so ist es nützlich, ein Tumormodell zu entwickeln, das eine Betrachtung der Behandlungseffekte in Abhängigkeit vom Abstand der Zellen zur Blutkapillare erlaubt.

Das verwendete Tumormodell stellt eine starke Vereinfachung der sehr komplizierten Verhältnisse im Tumor dar. Die angenommene lineare Beziehung zwischen dem mittleren Kapillarabstand und dem äußeren Tumordurchmesser ist eine grobe Näherung. Es ist bekannt, daß der sich vergrößernde Tumor das Blutkapillarsystem veranlaßt mitzuwachsen (210, 250). Die Entstehung von hypoxischen Zellen und Nekrosegebieten deutet allerdings darauf hin, daß die Erweiterung des Blutkapillarsystems mit dem Tumorwachstum nicht Schritt hält (150,239). So hat INCH, (1968) (138) am spontanen C_3H -Tumor histologisch feststellen können, daß bei einer Verzehnfachung des Tumorumfanges die Zahl der Blutgefäße pro Volumeneinheit auf ein Neuntel zurückging, während der mittlere Durchmesser der Gefäße sich verdoppelte. Diese Beobachtung und die von verschiedenen Autoren (36,103,154,207,239) festgestellte Abnahme der Blutdurchflußmenge pro Volumeneinheit bei Vergrößerung des Tumors erhärtet die Annahme, daß mit dem Wachstum des Tumors sich der interkapillare Abstand vergrößert.

Trotz der vereinfachenden Annahme, die zu dem in dieser Arbeit entwickelten Tumormodell führten, können die gewonnenen Resultate qualitativ als repräsentativ angesehen werden und erlauben einige grobe Abschätzungen.

In Kapitel 4.22 wurde an Hand von Abbildung 28 gezeigt, daß die Zellverlustrate von bestrahlten Tumorzellen stark abfällt in einem Abstand der Zellen von etwa $1,7 r_0$ zu den Blutkapillaren. Bei Strahlensensibilisierung mit Ro-07-0582 vergrößert sich dieser Abstand auf etwa $2,7 r_0$, also um einen Faktor von fast 1,6. Dieses Ergebnis demonstriert die Fähigkeit der Substanz Ro-07-0582, weiter in den Tumor zu diffundieren als es der Sauerstoff vermag.

Von TANNOCK, (1972) (241) wird für den Diffusionsradius des Sauerstoffs im Crocker Sarkom einer Maus ein mittlerer Wert von $140 \mu\text{m}$, also etwa 14 Zelldurchmesser, angegeben. Mit dem Faktor 1,6 ergibt sich für die Diffusion des Sensibilisators Ro-07-0582 eine Reichweite von etwa $220 \mu\text{m}$, entsprechend 22 Zellabstände. Nach den Angaben verschiedener Autoren (12,48,93,244,245) muß in dieser Kapillarentfernung mit starker Nekrosebildung gerechnet werden.

Der plötzliche Abfall der Sensibilisierungswirkung in Abbildung 29 ist also eher eine Folge des Nekrosebeginns als einer beschränkten Reichweite des Sensibilisators Ro-07-0582. Man kann daher davon ausgehen, daß die Zellen im Abstand des maximalen Sensibilisierungseffektes als rein hypoxisch anzusehen sind. Ihnen wurde deshalb in Abbildung 28 die entsprechende Zellverlustrate λ^{hypox} zugeordnet. Die Zellverlustrate der rein euoxischen Zellen ließ sich durch Extrapolation von r gegen r_0 abschätzen.

5.23 Anteil hypoxischer Zellen am Tumor

Nach Angaben von POWERS und TOLMACH, (1963) (194) gibt es in einem Tumor nur 2 Zellpopulationen mit unterschiedlicher Strahlenempfindlichkeit. Abbildung 28 zeigt jedoch, daß in dem hier untersuchten Tumor neben den Bezirken mit rein euoxischen und rein hypoxischen Zellen ein großer Volumenanteil mit gemischten Zellen existieren kann. Eine

Alternative wären Zellen in einem Zwischenzustand mit intermediärer Strahlenempfindlichkeit. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit Überlegungen, die von TANNOCK, (1972) (241) unter Annahme eines zylindrischen Tumormodells gemacht wurden.

Obwohl die Strahlenempfindlichkeit der Zellen sich über einen nur sehr kleinen Bereich des Sauerstoffpartialdruckes stark ändert (Abb. 2), konnte TANNOCK zeigen, daß die Anwendung der Diffusionsgesetze zu einer sehr stetigen Abnahme der Strahlenempfindlichkeit mit zunehmender Kapillarentfernung der Zellen führt (Abb. 35).

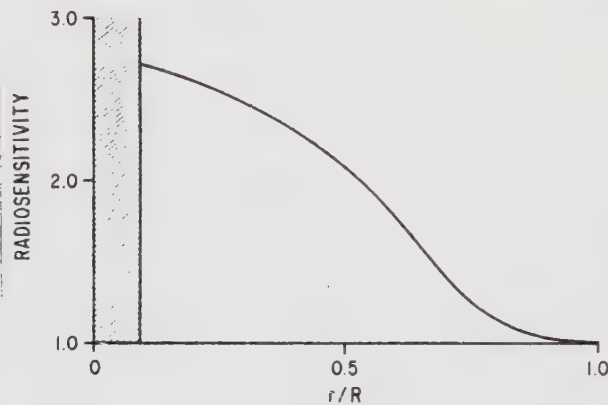


Abb. 35: Strahlenempfindlichkeit der Zellen als Funktion des radialen Abstandes von der Blutkapillare (nach TANNOCK, 1972).

Auf Grund dieser Resultate von TANNOCK und den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, muß man davon ausgehen, daß keine klare Grenze zwischen euoxischen und hypoxischen Zellen existiert und ein beträchtlicher Anteil der Tumorzellen sich in einem Zwischenzustand befindet. Dadurch erschwert sich die Bestimmung des hypoxischen Anteils der Zellen am Tumor.

In Kapitel 4.23 wurde das Problem umgangen, indem angenommen wurde, daß ein Tumorbereich in einem solchen Zwischenzustand sich aus Zellen zusammensetzt mit rein euoxischen und rein hypoxischen Zuständen. Tatsächlich aber dürfte sich jede einzelne Zelle dieses Tumorbereichs in einem Zwischenzustand befinden.

Die Abhängigkeit des geschätzten hypoxischen Anteils von der Tumorgröße ist in Abbildung 27 dargestellt. Bei Tumoren unter 500 mm^3 Tumolvolumen hat man weniger als 12 % hypoxische Zellen. Bei Verdoppelung des Tumolvolumens vervierfacht sich nahezu der hypoxische Anteil. Für Tumoren über 1200 mm^3 Volumen ist eine Aussage nicht mehr möglich, da der Nekrosebeginn die Meßergebnisse verfälscht. Es ist bekannt, daß das Sarkom 180 als schnell wachsender Tumor einen relativ großen hypoxischen Anteil aufweist und zu starker Nekrosebildung neigt (61,173).

Der Anteil der hypoxischen Zellen am Gesamttumor hängt zweifellos von der Art des Tumors und der Tiere ab (117, 229,255). Die Größenordnung der hier ermittelten Werte für das Sarkom 180 an NMRI-Mäusen findet grobe Übereinstimmung mit Angaben anderer Autoren über den hypoxischen Anteil verschiedener solide wachsender Tumoren (Tabelle 2).

Autor	Tumor	Tumorvol. (mm ³)	hypox. Anteil
HEWITT u. WILSON 1961 (119)	Rundzell- Sarkom	?	50 %
SUIT u. MADEA 1967 (229)	MDAH-MCa-4 Karzinom	ca. 250	20 - 25 %
VanPUTTEN, KALLMAN 1968 (256)	KHT-Sarkom	ca. 1000	14 %
HILL et al. 1971 (120)	KHT-Sarkom	500-1000	10 - 30 %
HILL u. BUSH 1976 (121)	KHT-Sarkom	100-250	30 %
Eigene Messung 1976	Sarkom 180	500-1000	12 - 46 %

Tabelle 2: Hypoxischer Anteil verschiedener Tumoren.

5.24 Tumorwachstumsbetrachtungen

Es ist eine Erfahrungstatsache, daß die Heilbarkeit eines Tumors entscheidend von seiner Ausdehnung abhängt (35,250). Abbildung 31 in Kapitel 4.3 verdeutlicht anschaulich diesen Umstand, der offenbar darauf zurückzuführen ist, daß die Zahl der strahlenresistenteren, hypoxischen Zellen mit zunehmender Tumorgröße ansteigt (24,35,116,138,230). In Kapitel 4.1 und 4.2 dieser Arbeit konnte an Hand von Zellverlustmessungen gezeigt werden, daß diese hypoxischen Zellen durch eine Strahlensensibilisierung eine erhöhte Zellschädigung erfahren können. Wenn man durch eine solche Sensibilisierung der hypoxischen Zellen eine Verbesserung der konventionellen Strahlentherapie erreichen will, so muß

man letztlich zeigen können, daß die Sensibilisierung auch eine günstigere Tumorentwicklung bewirkt.

Die Tumorstadiumsbetrachtungen in Kapitel 4.3 (Abb. 32, 33 und 34) bestätigen deutlich die positive Wirkung der Strahlensensibilisierung auf die Tumorentwicklung. Abbildung 34 zeigt, daß die erforderliche Strahlendosis zur Verringerung der Tumorstadiumsgrößen auf einen bestimmten Wert durch die Strahlensensibilisierung um einen Faktor 1,43 reduziert werden kann. Dieser Wert findet grobe Übereinstimmung mit dem Faktor von 1,54 zur Erreichung des gleichen Sauerstoffeffektes (Kapitel 4.14), der über die Zellverlustratenänderung bestimmt wurde. Es besteht also offensichtlich eine Korrelation zwischen der Strahlenauswirkung auf das Tumorstadium und der auf die Zellverlustrate im Tumor.

Tumorstadiumsbetrachtungen bilden ein oft angewandtes Meßverfahren, um die Wirkung von Strahlensensibilisatoren in vivo zu testen (23,49,52,214,215). Abbildung 36 zeigt, daß für den Sensibilisator Ro-07-0582 dieses Verfahren auch beim Sarkom 180 an NMRI-Mäusen zu Ergebnissen führt, die mit den Resultaten anderer Autoren in Einklang stehen.

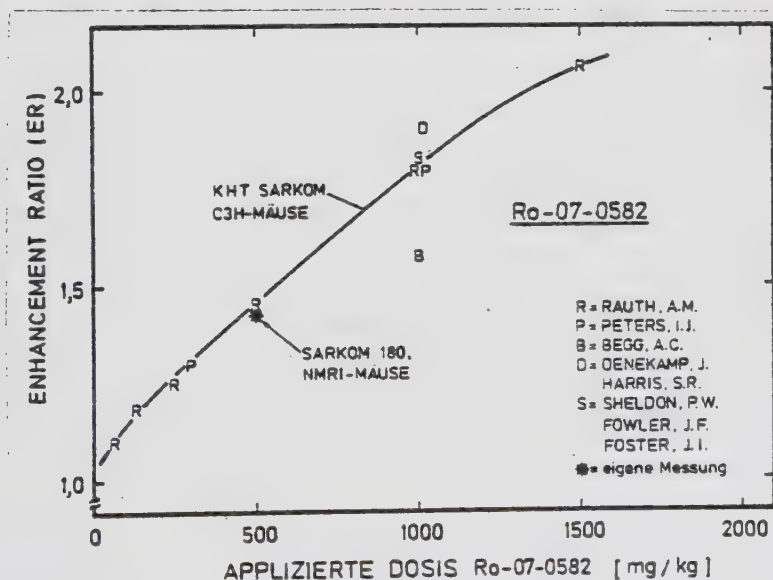


Abb. 36: Vergleich der Ergebnisse aus Tumorstadiumsbetrachtungen verschiedener Autoren (in Anlehnung an ADAMS, (1975) (2)).

Für den therapeutischen Erfolg einer Strahlensensibilisierung ist es wesentlich, daß eine Erhöhung des Strahlenschadens vorwiegend in den hypoxischen Zellfraktionen des Tumors gelingt, damit das den Tumor umgebende euoxische gesunde Gewebe weitgehend geschont werden kann. Mit der Methode der Tumorstadiumsbetrachtung allein ist jedoch ohne Störung der natürlichen Verhältnisse eine Differenzierung der Sensibilisierungswirkung in den verschiedenen Zellfraktionen nicht gegeben.

Erst mit der IUDR-Doppelmarkierungstechnik und externen Messung der Zellverlusten konnte in dieser Arbeit ohne Störung der Tumor-Wirt-Beziehung gezeigt werden, daß die Strahlensensibilisierung mit elektronenaffinen Substanzen in der Lage ist, im lebenden Organismus vorwiegend die hypoxischen Zellen zu sensibilisieren und so den Sauerstoffeffekt erheblich zu reduzieren vermag. Damit verspricht die chemotherapeutische Strahlensensibilisierung eine Steigerung der Effektivität der bisherigen Tumorthherapie auch im klinischen Bereich.

Es bleibt die interessante Frage, inwieweit sich die Erfolge der Strahlensensibilisierung auch durch andere Methoden zur Verringerung des Sauerstoffeffektes erreichen lassen, wie fraktionierte Bestrahlung, Hyperthermie oder Strahlen mit hohem LET, und inwieweit durch eine Kombination dieser Methoden eine Addition der Effekte erzielt werden kann. Das Verfahren der Zellverlustbestimmung in vivo eignet sich zweifellos zur Untersuchung dieser Frage.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Behandlung von Tumoren mit Gamma-Strahlen wird in ihrer Effektivität eingeschränkt durch das Auftreten von relativ strahlenresistenten sauerstoffarmen Tumorzellen. Zur Verbesserung der Tumorthherapie wird versucht, die Strahlenresistenz dieser hypoxischen Zellen durch eine Sensibilisierung mit chemischen Präparaten abzubauen. Eine klinische Anwendung dieser chemotherapeutischen Strahlensensibilisierung erfordert den Nachweis der Effekte unter in vivo Bedingungen und ohne Störung der Tumor-Wirt-Beziehung.

In der vorliegenden Arbeit wurden die zellulären Effekte einer Strahlensensibilisierung im Sarkom 180 an NMRI-Mäusen mit einer speziellen IUdR-Doppelmarkierungstechnik in vivo untersucht. Dazu wurden Zellfraktionen unterschiedlicher Sauerstoffversorgung mit radioaktivem 125-Jod bzw. 131-Jod-Desoxyuridin markiert. Die Gamma-Strahlung der beiden Jodisotope wurde extern mit einem Szintillationszähler gemessen. Aus der Aktivitätsretention ließ sich die Zellverlustrate der verschieden markierten Zellfraktionen bestimmen.

Es konnte in vivo gezeigt werden, daß eine Strahlensensibilisierung durch elektronenaffine organische Verbindungen die Zellverlustrate vorwiegend der hypoxischen Zellen erhöht.

Das Verhältnis der Zellverlustraten aus den hypoxischen und den euoxischen Tumorearealen betrug nach reiner Gamma-Bestrahlung mit 2000 R 0,77. Durch die Anwendung von Strahlensensibilisatoren (Nitrofurazon, Furaltadon, Metronidazol, DNPC und Ro-07-0582) verbesserte sich dieses Verhältnis auf 0,84 bis 0,93.

Den größten Sensibilisierungseffekt zeigte das 2-Nitroimidazol Ro-07-0582 und zwar dann, wenn die Substanz 15 Minuten vor der Bestrahlung injiziert wurde. Eine Applikation nach der Bestrahlung blieb ohne direkte Wirkung.

Der Sauerstoffeffekt ließ sich durch die Strahlensensibilisierung mit 500 mg/kg Ro-07-0582 um einen Faktor 1,54 reduzieren. Aus den Tumorwachstumsbetrachtungen ergab sich ein dosismodifizierender Faktor von $ER = 1,43$. Der erzielte Sensibilisierungseffekt nahm als Funktion der Tumorgröße nach einem Schwellwert deutlich ab. Die Entwicklung eines vereinfachten Tumormodells erlaubte die Darstellung der zellulären Effekte als Funktion des Abstandes der Zellen von den Blutkapillaren. Nach diesem Modell ist der Diffusionsradius des Sensibilisators Ro-07-0582 gegenüber dem des Sauerstoffs um einen Faktor von mindestens 1,6 vergrößert.

Unter Kenntnis der sensibilisierenden Wirkung auf euoxische und hypoxische Zellen ergab die Abschätzung des hypoxischen Anteils der Zellen am Tumor für ein Volumen von 500 mm^3 einen Wert von 12 %, für ein Volumen von 1000 mm^3 46 %. Mit der verwendeten Meßtechnik gelang eine qualitative und quantitative Erfassung verschiedener Bestrahlungs- und Sensibilisierungseffekte am lebenden Organismus ohne Störung der Tumor-Wirt-Beziehung. Die Ergebnisse und Erkenntnisse dieser Arbeit zeigen, daß mit der Strahlensensibilisierung durch elektronenaffine Substanzen eine interessante Weiterentwicklung der klinischen Strahlentherapie möglich wird.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Adams, G.E.:
Molecular Mechanisms of Cellular Radiosensitization and Protection. In: Radiation Protection and Sensitization. Ed. Moroson, H.L., Quintiliani, M.
Taylor and Francis, London, 1970, p.p. 3-14.
- 2) Adams, G.E.:
Chairman's Comments on the Discussion of Effects in Vivo. In: Proceedings of the Fifth Int. Congress of Radiation Research, Seattle, 1974.
Radiation Research, Academic Press, New York - San Francisco - London, 1975, p. 773.
- 3) Adams, G.E., Asquith, J.C., Watts, M.E.:
Electron-Affinic Sensitizers for Hypoxic Cells Irradiated In Vitro and In Vivo: Current Status. In: Advances in Chemical Radiosensitization.
Panel Proc. Series, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1974, p.1.
- 4) Adams, G.E., Cooke, M.S.:
Electron-Affinic Sensitization. I. A Structural Basis for Chemical Radiosensitizers in Bacteria.
Int. J. Radiat. Biol., 15, (1969), 457.
- 5) Adams, G.E., Cooke, M.S., Michael, B.D.:
Rapid Mixing in Radiobiology.
Nature, 219, (1968), 1368.
- 6) Adams, G.E., Dewey, D.L.:
Hydrated Electrons and Radiobiological Sensitization.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 12, (1963), 473.
- 7) Adams, G.E., Fowler, J.F.:
Radiosensitisation of Hypoxic Cells in Solid Tumours in Mice.
Brit. J. Radiology, 48, (1975), 77.
- 8) Adams, G.E., Greenstock, C.L., van Hemmen, J.J., Willson, R.L.:
Radical Oxidation Mechanisms in Cellular Radiosensitization: Electron Transfer in the Pulse Radiolysis of Aqueous Nucleotide Solutions.
Radiation Res., 49, (1972), 85.

- 9) Adams, G.E., Michael, B.D., Asquith, J.C., Shenoy, M.A., Watts, M.E., Whillans, D.W.:
Rapid Mixing Studies on the Time-Scale of Radiation Damage in Cells. In: Proceedings of the Fifth Int. Congress of Radiation Research, Seattle, 1974. Radiation Research, Academic Press, New York - San Francisco - London, 1975, p. 478.
- 10) Adams, G.E., Michael, B.D., Willson, R.L.:
In: Advances in Chemistry. Ed. Gould, R.F. American Chemical Society, Vol. 71, 1968, p. 287.
- 11) Agnew, D.A., Skarsgard, L.D.:
Sensitization of Anoxic Mammalian Cells to Radiation by Triacetoneamine-N-Oxyl. Effect of Pre- and Post-irradiation Treatment. Radiation Res., 51, (1972), 97.
- 12) Albritton, E.C.:
Standard Values in Nutrition and Metabolism. W.B. Saunders, Philadelphia - London, 1954.
- 13) Alper, T., Bryant, P.E.:
Reduction in Oxygen Enhancement Ratio with Increase in LET: Tests of Two Hypotheses. Int. J. Radiat. Biol., 26, (1974), 203.
- 14) Alper, T., Howard-Flanders, P.:
Role of Oxygen in Modifying the Radiosensitivity of E. Coli B. Nature, 178, (1956), 978.
- 15) Andrews, J.R.:
Physical, Biological and Clinical Aspects of Fast Neutron and Other LET Radiation and Implications for Fast Neutron Beam Clinical Radiotherapy. In: Cellular Radiation Biology. Williams and Wilkins, Baltimore, 1965, p. 558-583.
- 16) Ardenne, M. v.:
Betrachtungen und Messungen zur selektiven chemischen Sensibilisierung der Krebszelle gegen Wärme. In: Grundlagen der Krebs-Mehrschritt-Therapie. VEB-Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1967, 298-315.

- 17) Asquith, J.C., Forster, J.L. Willson, R.L.:
Radiosensitization of Hypoxic Cells by Metronidazole (Flagyl).
Brit. J. Radiology, 46, (1973), 648.
- 18) Asquith, J.C., Foster, J.L., Willson, R.L.:
Metronidazole ("Flagyl"). A Radiosensitizer of Hypoxic Cells.
Brit. J. Radiology, 47 (1974), 474.
- 19) Asquith, J.C., Watts, M.E., Patel, K., Smithen, C.E., Adams, G.E.:
Electron Affinic Sensitization. V. Radiosensitization of Hypoxic Bacteria and Mammalian Cells In Vitro by some Nitroimidazoles and Nitropyrazoles.
Radiation Res., 60, (1974), 108.
- 20) Barendsen, G.W., Broerse, J.J.:
Experimental Radiotherapy of a Rat Rhabdomyosarcoma with 15 MeV Neutrons and 300 kV X-Rays. II. Effects of Fractionated Treatments, Applied Five Times a Week for Several Weeks.
Europ. J. Cancer, 6, (1970), 89.
- 21) Barth, G.:
Über den Einfluß der Hyperthermie auf das Wachstum maligner Tumoren im Tierversuch. In: Lampert, H. und Selawry, O.:
Körpereigene Abwehr und bösartige Geschwülste.
K.F. Haug Verlag, Ulm 1957, 105-109.
- 22) Barth, G., Graebner, H., Carl, M., Ponath, H.:
Zusätzliche medikamentöse Behandlung des Tumorbettes. X. Mitteilung: Histologische Untersuchungen des Crocker Sarkom 180 unter kombinierter Acthaemyl-Strahlenbehandlung Strahlentherapie, 127, (1965), 418.
- 23) Begg, A.C., Sheldon, P.W., Foster, J.L.:
Demonstration of Radiosensitization of Hypoxic Cells in Solid Tumours by Metronidazole.
Brit. J. Radiology, 47, (1974), 399.
- 24) Belli, J.A., Andrews, J.R.:
Relationship Between Tumor Growth and Radiosensitivity.
J. National Cancer Inst., 31, (1963), 689.

- 25) Berry, R.J.:
Growing Points in Mammalian Radiobiology and their
Implications for Radiotherapy.
Radiol. Clin. North America, 7, (1969), 281.

- 26) Berry, R.J.:
Survival of Murine Leukaemia Cells In Vivo after Irradiation In Vitro under Aerobic and Hypoxic Conditions with Monoenergetic Accelerated Charged Particles.
Radiation Res., 44, (1970), 237.

- 27) Berry, R.J., Andrews, J.R.:
Quantitative Relationship between Radiation Dose and the Reproductive capacity of Tumor Cells in a Mammalian System In Vivo.
Radiology, 77, (1961), 824.

- 28) Bewley, D.K.:
Fast Neutron Beams for Radiotherapy. In: Current Topics in Radiation Research, 6, (1970), p. 249-292.

- 29) Bosiljanoff, P., Porschen, W., Piepenbring, W., Mühlensiepen, H., Feinendegen, L.E.:
In-vivo-Untersuchungen über die relative Strahlenempfindlichkeit von hypoxischen Tumorzellen.
Strahlentherapie, (1976), im Druck.

- 30) Broerse, J.J., Barendsen, G.W.:
Recovery of Culture Cells after Fast Neutron Irradiation.
Int. J. Radiat. Biol., 15, (1969), 335.

- 31) Broerse, J.J. Barendsen, G.W., van Kersen, G.R.:
Survival of Cultured Human Cells after Irradiation with Fast Neutrons of Different Energies in Hypoxic and Oxygenated Conditions.
Int. J. Radiat. Biol., 13, (1967), 559.

- 32) Brustad, T.:
Radiosensitization of Anoxic Cells of E. Coli K-12 by Organic Nitroxyl Free Radicals.
Int. J. Radiation Biol., 22, (1972), 443.

- 33) Brustad, T., Jones, W.B.G., Nakken, K.F.:
On the Binding of an Organic Nitroide Free Radical to Radiation-Induced Deoxyribonucleic Acid (DNA) Radicals under Anoxic Conditions.
Int. J. Radiat. Phys. Chem., 3, (1971), 55.

- 34) Burki, H.J., Roots, R., Feinendegen, L.E., Bond, V.P.:
Inactivation of Mammalian Cells after Desintegration
of 3-H or 125-I in Cell DNA at -196°C.
Int. J. Radiation Biology, 24, (1973), 363.
- 35) Busch, M., Popp, F.A.:
Der Volumenfaktor in der Strahlentherapie. Die Bedeutung
des Herd- bzw. Tumolvolumens für die Beurteilung des
strahlentherapeutischen Effektes.
Strahlentherapie, 149, (1975), 75.
- 36) Cataland, S., Cohen, C., Sapirstein, L.A.:
Relationship between Size and Perfusion Rate of Trans-
planted Tumors.
J. Nat. Cancer Inst., 29, (1962), 389.
- 37) Chan, P.C., Lisco, E., Lisco, H., Adelstein, S.J.:
The Radiotoxicity of Iodine-125 in Mammalian Cells.
II. A Comparative Study on Cell Survival and Cyto-
genetic Responses to 125-IUdR, 131-IUdR, and 3-HTdR.
Radiation Res., 67, (1976), 332.
- 38) Chapman, J.D., Dugle, D.L., Reuvers, A.P., Gillespie,
C.J., Borsa, J.:
Chemical Radiosensitization Studies with Mammalian Cells
Growing In Vitro. In: Proceedings of the Fifth Int. Con-
gress of Radiation Research, Seattle, 1974. Radiation
Research, Academic Press, New York - San Francisco -
London, 1975, p. 752.
- 39) Chapman, J.D., Greenstock, C.L., Reuvers, A.P.,
McDonald, E., Dunlop, I.:
Radiation Chemical Studies with Nitrofurazone as
Related to its Mechanism of Radiosensitization.
Radiation Res., 53, (1973), 190.
- 40) Chapman, J.D., Raleigh, J.A., Borsa, J., Webb, R.G.,
Whitheous, R.:
Radiosensitization of Mammalian Cells by p-Nitroaceto-
phenone. II. Effectiveness of Analogues.
Int. J. Radiation Biol., 21, (1972), 475.
- 41) Chapman, J.D., Reuvers, A.P., Borsa, J.,:
Effectiveness of Nitrofurans Derivates in Sensitizing
Hypoxic Mammalian Cells to X-Rays.
Brit. J. Radiology, 46, (1973), 623.

- 42) Chapman, J.D., Reuvers, A.P., Borsa, J., Petkau, A., McCalla, D.R.:
Nitrofurans as Radiosensitizers of Hypoxic Mammalian Cells.
Cancer Res., 32, (1972), 2616.

- 43) Clifton, K.H., Briggs, R.C., Stone, H.B.:
Quantitative Radiosensitivity Studies of Solid Carcinomas In Vivo: Methodology and Effect of Anoxia.
J. National Cancer Inst., 36, (1966), 965.

- 44) Cohen, L.:
A Critical "Dose-Per-Fraction" Factor.
Brit. J. Radiol., 40, (1967), 154.

- 45) Conger, A.D.:
The Effect of Oxygen on the Radiosensitivity of Mammalian Cells.
Radiology, 66, (1956), 63.

- 46) Commerford, S.L.:
Biological Stability of 5-Iodo-2'-Deoxyuridine Labeled with Iodine-125 after its Incorporation into the Deoxyribonucleic Acid of the Mouse.
Nature, 206, (1965), 949.

- 47) Cooke, B.C., Fielden, E.M., Johnsen, M., Smithen, C.E.:
Polyfunctional Radiosensitizers. I. Effects of a Nitroxyl Biradical on the Survival of Mammalian Cells in Vitro.
Radiation Res., 65, (1976), 152.

- 48) Denekamp, J.:
The Cellular Proliferation Kinetics of Animal Tumors.
Cancer Res., 30, (1970), 393.

- 49) Denekamp, J., Harris, S.R.:
Tests of Two Electron-Affinic Radiosensitizers In Vivo Using Regrowth of an Experimental Carcinoma.
Radiation Res., 61, (1975), 191.

- 50) Denekamp, J., Harris, S.R.:
The Response of a Transplantable Tumor to Fractionated Irradiation. 1. X-Rays and the Hypoxic Cell Radiosensitizer Ro-07-0582.
Radiation Res., 66, (1976), 66.

- 51) Denekamp, J., Michael, B.D.:
Preferential Sensitization of Hypoxic Cells to Radiation
in vivo.
Nature New Biology, 239, (1972), 21.
- 52) Denekamp, J., Michael, B.D., Harris, S.R.:
Hypoxic Cell Radiosensitizers: Comparative Tests of
some Electron Affinic Compounds Using Epidermal Cell
Survival In Vivo.
Radiation Res., 60, (1974), 119.
- 53) Dertinger, H., Jung, H.:
Molekulare Strahlenbiologie.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1969.
- 54) Deschner, E.E., Gray, L.H.:
The Influence of Oxygen Tension on X-ray Induced Chromoso-
mal Damage in Ehrlich Ascites Tumour Cells Irradiated In
Vitro and In Vivo.
Radiat. Res., 11, (1959), 115.
- 55) Deutsch, G., Foster, J.L., McFadzean, J.A., Parnell, M.:
Human Studies with "High Dose" Metronidazole: A Non-Toxic
Radiosensitizer of Hypoxic Cells.
Brit. J. Cancer, 31, (1975), 75.
- 56) Dewey, W.C., Furman, S.C., Miller, H.H.:
Comparison of Lethality and Chromosomal Damage Induced
by X-rays in synchronized Chinese Hamster Cells In Vitro.
Radiat. Res., 43, (1970), 561.
- 57) Dietzel, F., Ringleb, D., Schneider, U., Wricke, H.:
Microwaves in Radiotherapy of Tumours - Alternative to
Heavy Particles?
Strahlentherapie 149, (1975), 438.
- 58) Dietzel, F., Seibert, G., Klobe, G.:
Der Einfluß einer Hochfrequenzhyperthermie auf den Ver-
lauf des Ehrlich-Ascites-Karzinom der Maus.
Strahlentherapie 149, (1975), 105.
- 59) Dietzel, F., Weber, H.J., Porschen, W., Feinendegen,
L.E.:
Zur Wärmeempfindlichkeit von oxischen und hypoxischen
Zellen in einem Tumor.
Naturwissenschaften, 12, (1976), 585.

- 60) Dugle, D.L., Chapman, J.D., Gillespie, C.J., Borsa, J., Webb, R.G., Meeker, B.E., Reuvers, A.P.:
Radiation-Induced Strand Breakage in Mammalian Cell DNA. I. Enhancement of Single-Strand Breaks by Chemical Radiosensitizers.
Int. J. Radiat. Biol., 22, (1972), 545.
- 61) Dunham, L.C., Stewart, H.L.:
A Survey of Transplantable and Transmissible Animal Tumors.
J. Natl. Canc. Inst., 13, (1953), 1299.
- 62) Elkind, M.M.:
Cellular Aspects of Tumour Therapy.
Radiology, 74, (1960), 529.
- 63) Elkind, M.M.:
Sublethal X-ray Damage and its Repair in Mammalian Cells. In:
Radiation Research, Ed. by G. Silini, p. 558-586,
North Holland Publ. Co., Amsterdam, 1967.
- 64) Elkind, M.M., Sutton, H.:
Radiation Response of Mammalian Cells Grown in Culture.
Radiat. Res., 13, (1960), 556.
- 65) Elkind, M.M., Swain, R.W., Alescio, T., Sutton, H., Moses W.B.:
Oxygen, Nitrogen, Recovery and Radiation Therapy.
In: Cellular Radiation Biology, Williams and Wilkins,
Baltimore, 1965, p. 442-466.
- 66) Elkind, M.M., Whitmore, G.F.:
The Radiobiology of Cultured Mammalian Cells.
Gordon and Breach Science Publ. Inc., New York City,
1967.
- 67) Elkind, M.M., Withers, H.R., Belli, J.A.:
Intracellular Repair and the Oxygen Effect in Radiobiology and Radiotherapy.
Frint. Radiation Ther. Onc., 3, (1968), 55-87, Karger,
Basel - New York.

- 68) Emery, E.W., Denekamp, J., Ball, M.M. Field, S.B.:
Survival of Mouse Skin Epithelial Cells Following
Single and Divided Doses of X-Rays.
Radiation Res., 41, (1970), 450.
- 69) Epp, E.R., Weiss, H., Kessar, N.D., Santmasso, A.,
Heslin, J., Ling, C.C.:
Oxygen Diffusion Times in Bacterial Cells Irradiated
with High Intensity Pulsed Electrons: New Upper Limit
to the Lifetime of Oxygen Sensitive Species Suspected
to be Critical Sites in Bacterial Cells.
Radiation Res., 54, (1973), 171.
- 70) Ertl, H.H.:
Dosimetrie und Biologische Wirkung des Auger-Effekts.
Ganzkörpermessung mit intranuklearem 125-Jod-Deoxy-
uridine.
Inauguraldissertation, Mathematisch-Naturwissenschaft-
liche Fakultät der Universität Düsseldorf, 1970.
- 71) Ertl, H.H., Feinendegen, L.E.:
Microdosimetry of Iodine-125 with Reference to the
Auger Effect. In: Proceedings of the Second Symposium
on Microdosimetry, Stresa, 1969, Ed.: Ebert, H.G.,
Euratom, Brussels, 1970, p. 787.
- 72) Ertl, H.H., Feinendegen, L.E., Heiniger, H.J.:
Iodine-125, A Tracer in Cell Biology: Physical Proper-
ties and Biological Aspects.
Physics in Medicine and Biology, 15, (1970), 447.
- 73) Faraggi, M., Tal, Y.:
The Reaction of the Hydrated Electron with Amino Acids,
Peptides, and Proteins in Aqueous Solution. II. Formation
of Radicals and Electron Transfer Reactions.
Radiation Res., 62, (1975), 347.
- 74) Feinendegen, L.E.:
Tritium Labeled Molecules in Biology and Medicine.
Monography of the U.S. Atomic Energy Commission and
American Institute of Biological Sciences.
Academic Press Inc., New York, USA, 1967.
- 75) Feinendegen, L.E.:
Autoradiographische und biochemische Untersuchungen der
Zellproliferation in vivo. In: Präoperative Tumorbesträh-
lung, Vorträge vom Deutschen Röntgenkongress 1970,
Herausg.: O. Hug, Urban und Schwarzenberg, München -
Berlin - Wien, 1971, p. 12 - 22.

- 76) Feinendegen, L.E.:
Zelluläre Aspekte der Strahlensensibilisierung.
Strahlentherapie 143, (1972), 257.
- 77) Feinendegen, L.E.:
Biological Damage from the Auger Effect, Possible
Benefits.
Radiation Environ. Biophys., 12, (1975), 85
- 78) Feinendegen, L.E.:
Biokybernetik und onkologische Cytokinetik.
XIV. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklear-
medizin e.V., Berlin, Sept. 1976.
- 79) Feinendegen, L.E., Bond, V.P. Hughes, W.L.:
125-I-DU in Autoradiographic Studies of Cell Proliferation.
Exp. Cell Res., 43, (1966), 107.
- 80) Feinendegen, L.E., Bond, V.P., Hughes, W.L.:
Physiological Thymidine Reutilization in Rat Bone Marrow.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 122, (1966), 448.
- 81) Feinendegen, L.E., Ertl, H.H., Bond, V.P.:
Biological Toxicity Associated with the Auger Effect.
In: Biophysical Aspects of Radiation Quality.
IAEA, Vienne, 1971, p. 419.
- 82) Feinendegen, L.E., Heiniger, H.J., Friedrich, G., Cron-
kite, E.P.:
Differences in Reutilization of Thymidine in Hemopoietic
and Lymphopoietic Tissues of the Normal Mouse.
Cell Tissue Kinet., 6, (1973), 573.
- 83) Field, S.B., Jones, T., Thomlinson, R.H.:
The Relative Effects of Fast Neutrons and X-Rays on Tumour
and Normal Tissue in the Rat. I.: Single Doses.
Brit. J. Radiol., 40, (1967), 834
- 84) Foster, J.L., Willson, R.L.:
Radiosensitization of Anoxic Cells by Metronidazole.
Brit. J. Radiology, 46, (1973), 234.

- 85) Fowler, J.F.:
The Rationale of Dose Fractionation.
Front. Radiation Ther. Onc., 3, (1968), p. 6-23.
Karger, Basel - New York.
- 86) Fowler, J.:
The Relationship between Pion Therapy and Other New
Modalities: Neutrons, Hypoxic-Cell Radiosensitizers
and Nonstandard Fractionation.
Atomkernenergie (ATKE), 27, (1976), 161.
- 87) Fowler, J.F., Adams, G.E.:
Radiosensitization of Hypoxic Cells in Solid Tumours
in Mice.
Brit. J. Radiology, 48 (1975), 77.
- 88) Fowler, J.F., Denekamp, J., Sheldon, P.W., Smith, A.M.,
Begg, A.C., Harris, S.R., Page, A.L.:
Optimum Fractionation in X-Ray Treatment of C3H Mouse
Mammary Tumours.
Brit. J. Radiology, 47, (1974), 781.
- 89) Fox, B.W., Prusoff, W.H.:
The Comparative Uptake of 125-I Labeled 5-Iodo-2'-Deoxy-
uridine and Thymidine-3-H into Tissue of Mice Bearing
Hepatoma 129.
Cancer Res., 25, (1965), 234.
- 90) Freeman, G.R.:
Reactive Species Formed in the Radiolysis of Organic
Liquids. In: Radiation Research, Ed., G. Silini,
North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1967, p. 113.
- 91) Frindel, E., Tubiana, M., Vassort, F.:
Generation Cycle of the Mouse Bone Marrow.
Nature, 214, (1967), 1017.
- 92) Giesen, L.:
Untersuchungen über das Verhalten transfundierter,
125-J-UdR markierter Knochenmarkszellen der Maus.
Dissertation, Medizinische Fakultät der Universität
Düsseldorf, 1970.
- 93) Goldacre, R.J., Sylvén, B.:
On the Access of Blood-Borne Dyes to Various Tumour
Regions.
Brit. J. Cancer, 16, (1962), 306.

- 94) Gray, L.H.:
Radiologic Basis of Oxygen as a Modifying Factor in
Radiation Therapy.
Am. J. Roentgen., 85, (1961), 803.
- 95) Gray, L.H., Conger, A.D., Ebert, M., Hornsey, S.,
Scott, O.C.A.:
The Concentration of Oxygen Dissolved in Tissues at
the Time of Irradiation.
Brit. J. Radiol., 26, (1953), 638.
- 96) Greenstock, C.L., Adams, G.E., Willson, R.L.:
In: Second Int. Symp. on Radiosensitizing and Radiopro-
tective Drugs. Ed. Quintilliani, M., Moroson, H.,
Taylor and Francis, London, 1969.
- 97) Greenstock, C.L., Chapman, J.D., Raleigh, J.A.,
Sheirman, E., Reuvers, A.P.:
Competitive Radioprotection and Radiosensitization
in Chemical Systems.
Radiation Res., 59, (1974), 556.
- 98) Greenstock, C.L., Dunlop, I.:
Electron-Transfer Studies of Nitrofurans Using Pulse
Radiolysis.
Int. J. Radiat., 23, (1973), 197.
- 99) Greenstock, C.L., Raleigh, J.A., Kremers, W.,
McDonald, E.:
Chemical Screening Test for Cellular Radiosensitizers-
Nitrofurans.
Int. J. Radiat. Biol., 22, (1972), 401.
- 100) Greenstock, C.L., Ruddock, G.W.:
Pulse Radiolysis and ESR Studies of the Electron-Affinic
Properties of Nitroheterocyclic Radiosensitizers.
Radiation Res., 66, (1976), 472.
- 101) Gregoli, S., Bertinchamps, A.:
Free Radical Distribution in Gamma-Irradiated DNA.
Int. J. Radiation Biol., 21, (1972), 65.

- 102) Grundberg, E., Randall, L.O.:
Data Sheet on Ro7-0582 an Antitrichomonal Agent, 1966.
Mitteilung der Firma Hoffman-La Roche, Grenzach Wyhlen.
- 103) Gump, F.E., White, R.L.:
Determination of Regional Tumor Blood Flow.
Cancer, 21, (1968), 871.
- 104) Habers, E.:
Wirkung ionisierender Strahlen auf die Nukleinsäuren.
Strahlentherapie, 112, (1960), 333.
- 105) Hall, E.J.:
Radiosensitization of Hypoxic Cells with Metronidazole.
Brit. J. Radiology, 47, (1974), 513.
- 106) Hall, E.J.:
Radiobiology for the Radiologist.
Medical Department, Harper and Row, Publishers,
Hagerstone, Maryland, New York, Evanston, San Francisco,
London.
- 107) Hall, E.J., Novak, J.K., Marino, S.A.:
Comparative Radiobiological Measurements with Two High-
Energy Cyclotron-Produced Neutron Beams Presently Used
for Radiotherapy.
Brit. J. Radiology, 47, (1974), 882.
- 108) Hall, E.J., Roizin-Towle, L.:
Hypoxic Sensitizers: Radiobiological Studies at the
Cellular Level.
Radiology 117, (1975), 453.
- 109) Hall, E.J., Roizin-Towle, L., Theus, R.B., August, L.S.:
Radiobiological Properties of High-Energy Cyclotron-Pro-
duced Neutrons Used for Radiotherapy.
Radiology, 117, (1975), 173.
- 110) Handbook on Genetically Standardized Mice.
Jackson Laboratory, Bar Harbour Maine, 1968.
- 111) Harisiadis, L. Hall, E.J., Kraljevic, U., Borek, C.:
Hyperthermia: Biological Studies at the Cellular Level.
Radiology 117, (1975), 447.

- 112) Harris, J.W., Wara, W.M., Kane, L.J.:
Sensitization of Anoxic Mouse Tumours to X-Rays with
Diamide and Nifuroxime.
Int. J. Radiat. Biol., 26, (1974), 227.
- 113) Heiniger, H.J., Feinendegen, L.E., Friedrich, G.,
Ertl, H.H.:
Regional Reutilization of Thymidine in the Normal Mouse.
Jül - 679 - ME, Kernforschungsanlage Jülich, Jülich, 1970.
- 114) Hendry, J.H., Gilbert, C.W., Howard, A.:
K Values and Gain Factors of Fast Neutrons and X-Rays
for a Mammalian Cell System (CFU) in Vivo.
Radiation Res., 61, (1975), 504.
- 115) Henk, J.M.:
Doses Fractionation Make Hyperbaric Oxygen Unnecessary?
Proc. 3rd Eur. Congr. Radiol., Edinburgh, 1975, Ab-
stract No. 507.
- 116) Hermens, A.F., Barendsen, G.W.:
The Importance of Proliferation Kinetics and Clonogenicity
of Tumor Cells for Volume Response of Experimental Tumors
after Irradiation. In: Proceedings of the Fifth Int.
Congress of Radiation Research, Seattle, 1974.
Radiation Research, Academic Press, New York -
San Francisco - London, 1975, p. 834.
- 117) Hewitt, H.B., Chan, D.P-S., Blake, E.R.:
Survival Curves for Clonogenic Cells of a Murine Kera-
tinizing Squamous Carcinoma Irradiated In Vivo or under
Hypoxic Conditions.
Int. J. Radiation Biol., 12, (1967), 535.
- 118) Hewitt, H.B., Wilson, C.W.:
The Effect of Oxygen Tension on the Radiosensitivity of
Leukaemia Cells Irradiated In Situ in the Livers of
Leukaemic Mice.
Brit. J. Cancer, 13, (1959), 675.
- 119) Hewitt, H.B., Wilson, C.W.:
Survival Curves for Tumor Cells Irradiated In Vivo.
Ann. NY Acad. Sci., 95, (1961), 818.

- 120) Hill, R.P., Bush, R.S., Yeung, P.:
The Effect of Anaemia on the Fraction of Hypoxic
Cells in an Experimental Tumour.
Brit. J. Radiology, 44, (1971), 299.
- 121) Hill, R.P., Bush, R.S.:
A New Method of Determining the Fraction of Hypoxic
Cells in a Transplantable Murine Sarcoma.
Radiation Res., in press.
- 122) Hill, R.P., Bush, R.S.:
Repair and Reoxygenation in a Transplantable Murine
Sarcoma.
Radiation Res., in press.
- 123) Ho, Y.L., Ho, S.K.:
Studies of Parachloromercuribenzoate-Induced Radio-
sensitization in Escherichia Coli and Bacteriophages.
Radiation Res., 61, (1975), 230.
- 124) Hofer, K.G., Hughes, W.L.:
Radiotoxicity of Intranuclear Tritium, 125-Iodine and
131-Iodine.
Radiation Res., 47, (1971), 94.
- 125) Hofer, K.G., Prenskey, W., Hughes, W.L.:
Death and Metastatic Distribution of Tumor Cells in
Mice Monitored with 125-I-Iododeoxyuridine.
J. Natl. Cancer Inst., 43, (1969), 763.
- 126) Hofer, K.G., Swartzendruber, D.C.:
67-Ga-Citrate and 125-I-Iodo-2'-Deoxyuridine as Markers
for In-Vivo Evaluation of Tumor Cell Metastasis and
Death.
J. Natl. Cancer Inst., 50, (1973), 1039.
- 127) Hollaender, A., Stapleton, G.E., Martin, F.L.:
X-Ray Sensitivity of E. Coli as Modified by Oxygen
Tension.
Nature, 20, (1951), 103.
- 128) Holthausen, H.:
Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung. Unter-
suchungen an Askarideneiern.
Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol., 187, (1921), 1.

- 129) Horst, W., Conrad, B.:
Radiotherapie des Krebses mit negativen Pi-Mesonen.
Ein Bericht zum Züricher ETH-Isochronzyklotron.
Forts. auf dem Geb. der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin, 105, (1966), 299.
- 130) Howes, A.E.:
An Estimation of Changes in the Proportions and Absolute Numbers of Hypoxic Cells after Irradiation of Transplanted C3H Mouse Mammary Tumours.
Brit. J. Radiol., 42, (1969), 441.
- 131) Howard-Flanders, P.:
Physical and Chemical Mechanisms in the Injury of Cells by Ionizing Radiations. In: Advances in Biological and Medical Physics. Ed., Tobias, C.A., Lawrence, J.H. Academic Press Inc., New York, 1958, p. 553.
- 132) Howard-Flanders, P.:
Factors Affecting Radiation Injury to DNA in Bacteria and Bacteriophage Systems.
Broockhaven Symp. Biol., 14, (1961), 18.
- 133) Howard-Flanders, P., Boyce, R.P.:
DNA Repair and Genetic Recombination: Studies on Mutants of Escherichia Coli Defective in these Processes.
Radiation Res. Suppl., 6, (1966), 156.
- 134) Howard-Flanders, P., Moore, D.:
The Time Interval after Pulsed Irradiation within which Injury to Bacteria Can Be Modified by Dissolved Oxygen.
Radiation Res., 9, (1958), 422.
- 135) Hug, O.:
Medizinische Strahlenkunde.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1974.
- 136) Hughes, W.L., Commerford, S.L., Gitlin, D., Krüger, R.C., Schultze, B., Shah, V., Reilly, P.:
DNA Metabolism in Vivo: I. Cell Proliferation and Cell Death as Measured by Incorporation and Elimination of IUdR.
Fed. Proc., 23, (1964), 640.

- 137) Hughes, W.L.:
Radiotoxicity of Intracellular Decay of 125-I.
Proc. 4th Int. Congr. Rad. Res., Evian, 1970.
- 138) Inch, W.R., McCredie, J.A.:
Factors Influencing Radiosensitivity of Animal Tumors.
Canad. Med. Ass. J., 99, (1968), 337.
- 139) Jarret, A.A.:
Statistical Methods Used in the Measurement of Radio-
activity with some Useful Graphs and Nomographs.
AECU 262, United States Energy Commission, Oak Ridge,
National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee, 1946.
- 140) Johansen, I., Ward, J.F., Siegel, K., Sletten, A.:
X-Ray Induced Binding of N-Ethylmaleimide to DNA in
Aqueous Solutions.
Biochem. Biophys. Res. Comm., 33, (1968), 949.
- 141) Johanson, K.J.:
Effects of 60-Co-Gamma Radiation on the Distribution,
Catabolism and Incorporation of 125-I-5-Iodo-2'-Deoxy-
uridine into Intestinal and Splenic Deoxyribonucleic
Acid in Mice.
Acta Radiologica Exceptum, 11, (1972), 556.
- 142) Kallman, R.F.:
Repopulation and Reoxygenation as Factors Contributing to
the Effectiveness of Fractionated Radiotherapy.
Front. Radiation Ther. Onc., 3, (1968), 96.
Karger, Basel - New York.
- 143) Kaplan, H.S.:
Radiobiology's Contribution to Radiotherapy: Promise or
Mirage? Failla Memorial Lectures.
Radiation Res., 43, (1970), 460.
- 144) Kappos, A., Pohlitz, W.:
A Cybernetic Model for Radiation Reactions in Living Cell
I. Sparsely Ionizing Radiations; Stationary Cells.
Int. J. Radiat. Biol., 22, (1972), 51.

- 145) Kenough, G., Hofer, K.G.:
Molecular Consequences of the Auger Effect: The Fate of
Iododeoxyuridine Following Iodine-125 Decay.
Radiation Res., 67, (1976), 224.
- 146) Kiefer, J.:
Theoretical Aspects and Implications of the Oxygen Effect.
Presented at: Proceedings of the Fifth Int. Congress of
Radiation Research, Seattle, 1974.
Radiation Research, Academic Press, New York - London, 1975
p. 1025-1037.
- 147) Kirsch, R.E.:
Lethal Effects of Iodine-125 Decay by Electron Capture
in Escherichia Coli and in Bacteriophage T1.
Int. J. Radiation Biol., 21, (1972), 167.
- 148) Kirk, R.E.:
Experimental Design Procedures for the Behavioral
Sciences.
Brooks/Cole Publishing Company, Belmont, California.
- 149) Kligerman, M.M., Heidenreich, W.F., Greene, Susan:
Distribution of Tritiated Thymidine about a Capillary
Sinusoid in a Transplanted Mouse Tumour.
Nature, 196, (1962), 282.
- 150) Kolstad, P.:
Vascularization, Oxygen Tension, and Radiocurability in
Cancer of the Cervix.
Norwegian Monographs on Medical Science, Aas & Wahls Bok-
trykkeri, Oslo, Norway, 1964.
- 151) Krüger, R.C., Gitlin, D., Commerford, S.L., Stein, J.,
Hughes, W.L.:
IDU as a Tracer of DNA Metabolism In-Vivo.
Fed. Proc., 19, (1960), 307.
- 152) Kruuv, J., Sinclair, W.K.:
X-ray Sensitivity of Synchronized Chinese Hamster Cells
Irradiated during Hypoxia.
Radiation Res., 36, (1968), 45.

- 153) Lathja, L.G.:
Cell Proliferation. A Guinness Symposium. (Ed.: Fry,
Lamerton)
Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1963.
- 154) Lassen, N.A., Ingvar, D.H.:
The Blood Flow of the Cerebral Cortex Determined by
Radioactive Krypton-85.
Experimentia, 17, (1961), 42.
- 155) Le Breton, E., Moulé, Y.:
Biochemistry and Physiology of the Cancer Cell. In:
The Cell. Ed., Brachet, J., Mirsky, A.E.
Academic Press, New York, 1961, p. 497.
- 156) Legrys, G.A., Hall, E.L.:
The Oxygen Effect and X-ray Sensitivity in Synchronously
Dividing Cultures of Chinese Hamster Cells.
Radiat. Res. 37, (1969), 161.
- 157) Littbrand, B.:
Survival Characteristics of Mammalian Cell Lines after
Single or Multiple Exposures to Roentgen Radiation under
Oxic or Anoxic Conditions.
Acta Radiol. Ther., 9, (1970), 257.
- 158) Littbrand, B., Révész, L.:
The Effect of Oxygen on Cellular Survival and Recovery
after Radiation.
Brit. J. Radiol., 42, (1969), 914.
- 159) Little, J.B.:
Repair of Sub-Lethal and Potentially Lethal Radiation
Damage in Plateau Phase Cultures of Human Cells.
Nature, 224, (1969), 804.
- 160) Masuda, K.:
Effects of Neutrons on Cultured Mammalian Cells and their
Implication for Radiotherapy. In: Fractionation Size in
Radiobiology and Radiotherapy. Sugawara, T., Révész, L.,
Scott, C.A..
Urban und Schwarzberg, München-Berlin-Wien, 1974, p.94-103
- 161) McCredie, J.A., Inch, A.W., Kruuv, J., Watson, T.A.:
The Rate of Tumor Growth in Animals.
Growth, 29, (1965), 331.

- 162) McNally, N.J.:
A Comparison of the Effects of Radiation on Tumour Growth
Gelay and Cell Survial. The Effect of Radiation Quality.
Brit. J. Radiol., 48, (1975), 141.
- 163) McNally, N.J.:
The Effect of a Change in Radiation Quality on the
Ability of Electron Affinic Sensitizers to Sensitize
Hypoxic Cells.
Int. J. Radiation Biol., 29, (1976), 191.
- 164) Mendelsohn, M.L.:
Autoradiographic Analysis of Cell Proliferation in Spon-
taneous Breast Cancer of C3H Mouse. II. Growth and Sur-
vival of Cells Labeled with Tritiated Thymidine.
J. National Cancer Inst., 25, (1960), 485.
- 165) Mendelsohn, M.L.:
Autoradiographic Analysis of Cell Proliferation in Spon-
taneous Breast Cancer of C3H Mouse. III. The Growth Frac-
tion.
J. National Cancer Inst., 28, (1962), 1015.
- 166) Mendelsohn, M.L.:
Radiation Effects in Tumors.
In: Radiation Research, North Holland Publ., Amsterdam,
1967, S. 659-675.
- 167) Michaels, H.B., Rasburn, E.J., Hunt, J.W.:
Interaction of the Radiosensitizer Paranitroacetophenone
with Radiation-Induced Radicals on Nucleic Acid Components.
Radiation Res., 65, (1976), 250.
- 168) Miletic, B., Kucan, Z., Novak, D.:
Effect of Repeated X-Irradiation on the Process of
Degradation of Deoxyribonucleic Acid.
Nature, 202, (1964), 106.
- 169) Mitchell, J.S.:
In: Radiation Chemistry. Ed. Stein, G.,
Interscience, London, New York, Sydney, 1968, p. 287.

- 170) Mottram, J.C.:
A Factor of Importance in the Radiosensitivity of Tumours.
Brit. J. Radiol., 9, (1936), 606.
- 171) Mühlensiepen, H., Porschen, W.:
Untersuchungen der zellkinetischen Parameter beim soliden
Experimentaltumor Sarkom 180.
Interner Bericht, IME, Kernforschungsanlage Jülich, 1976.
- 172) Muckle, D.S., Dickson, J.A.:
The Selective Inhibitory of Hyperthermia on the Metabo-
lism and Growth of Malignant Cells.
Brit. J. Cancer 25, (1971), 771.
- 173) Nishioka, B.:
Proliferation Kinetics of Sarcoma-180.
Gann, 61, (1970), 563.
- 174) O'Farrell, T.P., Dunaway, P.B.:
Incorporation and Tissue Distribution of a Thymidine
Analogue in the Cotton Rat.
Comp. Biochem. Physiol., 22, (1967), 435.
- 175) Okumura, Y., Matsuzawa, T.:
Kinetic Study on the Establishment of Tumor Reoxyge-
nation by Irradiation.
Strahlentherapie, 148, (1974), 375.
- 176) Painter, R.B.:
Mechanisms of DNA Repair in Mammalian Cells. In:
Effects of Radiation on Cellular Proliferation and
Differentiation.
Int. Atomic Energy Agency, Vienna, (1968), 91.
- 177) Painter, R.B., Cleaver, J.E.:
Repair Replication in HeLa Cells after Large Dosis of X-
irradiation.
Nature, 216, (1967), 369.
- 178) Paul, H.E., Paul, M.F.:
The Nitrofurans - Chemotherapeutic Properties. In: Ex-
perimental Chemotherapeutic, Eds., Schnitzer, R.J.,
Hawking, F., Academic Press, New York, 1964, p. 307.

- 189) Peters, L.J.:
Modification of the Radiocurability of a Syngenic Murine Squamous Carcinoma by its Site of Growth, by Electron-Affinic Drugs, and by ICRF 159.
Brit. J. Radiology, 49, (1976), 708.
- 180) Pittner, W.:
Strahlenempfindlichkeit in Abhängigkeit vom Zellzyklus. IN VIVO Untersuchungen am transplantierten Sarkom 180 mit 125-Jod-Deoxyuridin und 15 MeV Neutronen.
Inaugural-Dissertation, Medizinische Fakultät der Universität Düsseldorf, 1972.
- 181) Pittner, W., Porschen, W., Feinendegen, L.E.:
In-vivo-Messung unterschiedlicher Strahlenempfindlichkeit von Tumorzellen während des Zellzyklus, Zellmarkierung mit 125-Jod-Desoxyuridin.
Strahlentherapie 145, (1973), 161.
- 182) Pohlitz, W., Schäfer, M.:
Recovery and Repair in Yeast Cells after Irradiation with Densely Ionizing Particles.
Presented at: Symposium on the Effects of Neutron Irradiation upon Cell Function. Neuherberg (Munich), 1973.
International Atomic Energy Agency, IAEA-SM-179/23.
- 183) Porschen, W.:
Zellkinetische Untersuchungen bei einem soliden Experimentaltumor (Sarkom 180) unter In Vivo Bedingungen; Externe Messungen mit Hilfe von markiertem Joddeoxyuridin.
Interner Bericht, IME, Kernforschungsanlage Jülich, 1974.
- 184) Porschen, W., Bosiljanoff, P., Gewehr, K., Weber, H.-J., Dietzel, F., Feinendegen, L.E.:
In Vivo Assay of the Radiation-Sensitivity of Hypoxic Tumour Cells; Influence of Radiation-Quality and Hypoxic Sensitization.
Presented at: Intern. Symposium on Radiobiological Research Needed for the Improvement of Radiotherapy, I.A.E.A., Vienna, 1976, in press.
- 185) Porschen, W., Bosiljanoff, P., Mühlensiepen, H., Feinendegen, L.E.:
Biologische in-vivo-Untersuchungen über die Bestrahlungseffekte von Gamma-Strahlen, schnellen Neutronen und Alpha-Teilchen bei einem soliden Experimentaltumor (Sarkom 180) und im gesunden Gewebe; Zellmarkierung mit J-125-Desoxyuridin.
Atomkernenergie (ATKE), Bd. 25, (1975), 183.

- 186) Porschen, W., Feinendegen, L.E.:
In-vivo-Bestimmung der Zellverlustrate bei Experimental-
tumoren mit markiertem Joddesoxyuridin.
Strahlentherapie, 137/6, (1969), 718.
- 187) Porschen, W., Feinendegen, L.E.:
Cell Loss Rate in Experimental Tumors Following 14 MeV
Neutron Irradiation. IN VIVO Experiments with Labeled
Iododeoxyuridine.
Presented at: IVth Int. Congress on Radiation Research,
Evian, 1970.
- 188) Porschen, W., Feinendegen, L.E.:
In Vivo Determination of RBE-Factors of 15 MeV-
Neutrons for Different Biological Effects in Normal
Tissue and Sarcoma 180, Using Cell Labeling with
I-125-Deoxyuridine. In: Radiobiological Applications
of Neutron Irradiation.
Panel Proc. Series, International Atomic Energy Agency,
Vienna, 1972.
- 189) Porschen, W., Feinendegen, L.E.:
Biologische In-vivo-Dosimetrie von 15 MeV-Neutronen
bei normalen und Tumorzellen - Zellmarkierung mit
Jod-125-Desoxyuridin.
Strahlentherapie, 145, (1973), 27.
- 190) Porschen, W.:
Biologische Effekte von schnellen Neutronen.
Kerntechnik, 14, (1972), 29.
- 191) Porschen, W., Feinendegen, L.E., Mühlensiepen, H.,
Piepenbring, W., Bosiljanoff, P.:
In Vivo Measurements of Radiosensitivity of Different
Cell Populations within Sarcoma-180 in Mice.
Presented at: 5th International Congress of Radiation
Research, Seattle, Washington, July 14-20, 1974.
- 192) Post, J., Hoffmann, J.:
The Effects of 5-Iodo-2'-Deoxyuridine upon the Repli-
cation of Ileal and Spleen Cells In Vivo.
Cancer Res., 29, (1969), 1859.

- 193) Potter, V.R.:
Biochemical Perspectives in Cancer Research.
Cancer Res. 24, (1964), 1085.
- 194) Powers, W.E., Tolmach, L.J.:
A Multicomponent X-Ray Survival Curve for Mouse Lymphosarcoma Cells Irradiated In Vivo.
Nature, 197, (1963), 710.
- 195) Powers, W.E., Tolmach, L.J.:
Demonstration of an Anoxic Component in a Mouse Tumor-Cell Population by in Vivo Assay of Survival Following Irradiation.
Radiology, 83, (1964), 328.
- 196) Prusoff, W.H.:
Studies on the Mechanism of Action of 5-Jodo-Deoxyuridine, an Analogue of Thymidine.
Cancer Res., 20, (1960), 92.
- 197) Prusoff, W.H., Jaffe, J.J., Günther, H.:
Studies in the Mouse on the Pharmacology of 5-Jodo-Deoxyuridine, an Analogue of Thymidine.
Biochem. Pharm., 3, (1960), 110.
- 198) Raju, M.R., Richman, C.:
Physical and Radiobiological Aspects of Negative Pions with Reference to Radiotherapy.
GANN Monograph, 9, (1970), 105.
- 199) Raju, M.R., Tobey, R.A., Jett, J.H., Walters, R.A.:
Age Response for Line CHO Chinese Hamster Cells Exposed to X-Irradiation and Alpha Particles from Plutonium.
Radiation Res., 63, (1975), 422.
- 200) Raleigh, J.A., Chapman, J.D., Borsa, J., Kremers, W., Reuvers, A.P.:
Radiosensitization of Mammalian Cells by P-Nitroacetophenone. III. Effectiveness of Nitrobenzene Analogues.
Int. J. Radiat. Biol., 23, (1973), 377.

- 201) Raleigh, J.A., Greenstock, C.L., Kremers, W.:
Chemical Radiosensitization of Phosphate Ester
Cleavage.
Int. J. Radiat. Biol., 23, (1973), 457.
- 202) Rauth, A.M., Kaufman, K.:
In Vivo Testing of Hypoxic Radiosensitizers Using the
KHT Murine Tumour Assayed by the Lung-Colony Technique.
Brit. J. Radiology, 48, (1975), 209.
- 203) Rauth, A.M., Kaufman, K., Thomson, J.E.:
In Vivo Testing of Hypoxic Cell Radiosensitizers. In:
Proceedings of the Fifth Int. Congress of Radiation
Research, Seattle, 1974.
Radiation Research, Academic Press, New York - San Fran-
cisco - London, 1975, p. 761.
- 204) Redpath, J.L., Willson, R.L.:
Chain Reactions and Radiosensitization: Model Enzyme
Studies.
Int. J. Radiation Biol., 27, (1975), 389.
- 205) Reuvers, A.P., Chapman, J.D., Borsa, J.:
Potential Use of Nitrofurans in Radiotherapy.
Nature, 237, (1972), 402.
- 206) Révész, L.:
Dependence of Dose-Fractionation on the Oxygenation of
Tumors. In: Fractionation Size in Radiobiology and
Radiotherapy. Sugawara, T., Révész, L., Scott, C.A..
Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien, 1974,
p. 142 - 155.
- 207) Robert, J., Martin J., Burg, C.:
Evolution de la Vascularisation d'une Tumeur Isologue
Solide de la Souris au Cours de sa Croissance.
Strahlentherapie, 133, (1967), 621.
- 208) Roots, R., Feinendegen, L.E., Bond, V.P.:
Comparative Radiotoxicity of 3-H-IUdR and 125-IUdR after
Incorporation into DNA of Cultured Mammalian Cells.
In: Proceedings of the Third Symposium on Microdosi-
metry, Stresa, 1971, Ed.: Ebert, H.G., Euratom,
Brussels, 1972, p. 371.

- 209) Roots, R., Smith, K.C.:
On the Nature of the Oxygen Effect on X-Ray-Induced
DNA Single-Strand Breaks in Mammalian Cells.
Int. J. Radiat. Biol., 26, (1974), 467.
- 210) Rubin, P., Casarett, G.:
Microcirculation of Tumors. Part I: Anatomy. Function,
and Necrosis.
Clin. Radiology, Edinburgh, 17, (1966), 220.
- 211) Scheer, K.E.:
Möglichkeiten und Aussichten einer Strahlentherapie
mit dicht ionisierenden Teilchen und Neutronen.
Strahlentherapie, 148, (1974), 440.
- 212) Schiffer, L.M., Nelson, J.S.R., Dilettuso, B.,
Migliorato, D., Randolph, W.:
Cytokinetics of the S-180 Ascites Tumor System.
Cell Tissue Kinet., 6, (1973), 165.
- 213) Schuler, R.H., Fessenden, R.W.:
Identification of Radicals and Measurements of their
Yields by ESR and Scavenger Methods.
In: Radiation Research, Ed., G. Silini,
North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1967, p. 99.
- 214) Sheldon, P.W., Foster, J.L., Fowler, J.F.:
Radiosensitization of C3H Mouse Mammary Tumours by a
2-Nitroimidazole Drug.
Brit. J. Cancer, 30, (1974), 560.
- 215) Sheldon, P.W., Hill, S.A., Foster, J.L., Fowler, J.F.:
Radiosensitization of C3H Mouse Mammary Tumours Using
Fractionated Dosis of X-Rays with the Drug Ro-07-0582.
Brit. J. Radiology, 49, (1976), 76.
- 216) Sheldon, P.W. Smith, A.M.:
Modest Radiosensitization of Solid Tumours in C3H
Mice by the Hypoxic Cell Radiosensitizer NDPP.
Brit. J. Cancer, 31, (1975), 81.

- 217) Shenoy, M.A., Asquith, J.C., Adams, G.E., Michael, B.D., Watts, M.E.:
Time-Resolved Oxygen Effect in Irradiated Bacteria and Mammalian Cells: A Rapid-Mix-Study.
Radiation Res., 62, (1975), 498.
- 218) Shooter, K.V.:
The Effects of Radiation on DNA Biosynthesis and Related Processes.
Prog. Biophys. Molec. Biol., 17, (1967), 291.
- 219) Simic, M., Hayon, E.:
A Model of Radiation Sensitization by Quinones.
Int., J. Radiat. Biol., 22, (1972), 507.
- 220) Simic, M., Powers, E.L.:
Correlation of the Efficiencies of some Radiation Sensitizers and their Redox Potentials.
Int. J. Radiat. Biol., 26, (1974), 87.
- 221) Simpson-Herren, L., Blow, J.G., Brown, P.H.:
The Mitotic Cycle of Sarcoma-180.
Cancer Res., 28, (1968), 724.
- 222) Simpson-Herren, L., Lloyd, H.H.:
Kinetic Parameters and Growth Curves for Experimental Tumor Systems.
Cancer Chemother. Rep., 54, (1970), 143.
- 223) Stachura, J.:
Measurement of Extent of Necrosis as an Index of the Protective Action of Pharmaca in Crocker Sarcoma in Mice.
Pat. Pol., 17, (1966), 475.
- 224) Stecher, G., Bloemertz, H., Pfitzer, P.:
Sarkom 180: Wachstum und Regression.
Beiträge zur Pathologie, 158, (1976), 255.
- 225) Steel, G.G.:
Cell Loss as a Factor in the Growth Rate of Human Tumours.
Europ. J. Cancer, 3, (1967), 381.

- 226) Stone, H.B., Withers, H.R.:
Effects of Metronidazole and Radiation on Tumours and
Normal Tissue in Mice in vivo.
Radiation Res., 59, (1974), 143.
- 227) Stone, H.B., Withers, H.R.:
Enhancement of the Radioresponse of a Murine Tumour by
a Nitroimidazole.
Brit. J. Radiology, 48, (1975), 411.
- 228) Streffer,
Strahlen-Biochemie.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1969.
- 229) Suit, H.D., Madea, M.:
Hyperbaric Oxygen and Radiobiology of a C3H Mouse
Mammary Carcinoma.
J. National Cancer Inst., 39, (1967), 639.
- 230) Suit, H., Schlachter, L.:
"Oxygen Effect" and Tumor Size as Related to Response
of C3H/Ba Adenocarcinoma to Local X Irradiation.
J. National Cancer Inst., 24, (1960), 1271.
- 231) Sutherland, R.M.:
Selective Chemotherapy of Noncycling Cells in an In
Vitro Tumor Model.
Cancer Res., 34, (1974), 3501.
- 232) Sutherland, R.M., Durand, R.E.:
Radiosensitization by Nifuroxime of the Hypoxic Cells in
an In Vitro Tumour Model.
Int. J. Biol., 22, (1972), 613.
- 233) Sutherland, R.M., Durand, R.E.:
Hypoxic Cells in an In Vitro Tumour Model.
Int. J. Radiat. Biol. 23, (1973), 235.
- 234) Szybalski, W.:
Molecular Events Resulting in Radiation Injury, Repair
and Sensitization of DNA.
Radiation Res. Suppl., 7 (1967), 147.

- 235) Szybalski, W., Opara-Kubinska, Z.:
Radiobiological and Physicochemical Properties of 5-Bromodeoxyuridine-Labeled Transforming DNA as Related to the Nature of the Critical Radiosensitive Structures. In: Cellular Radiation Biology, Williams and Wilkins Co., Baltimore, Maryland, 1965, 223.
- 236) Szybalski, W., Lorkiewicz, Z.:
On the Nature of the Principal Target of Lethal and Mutagenic Radiation Effects.
Abhandl. Deut. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Med., 1, (1962), 63.
- 237) Tal, Y., Fargaggi, M.:
The Reaction of the Hydrated Electron with Amino Acids, Peptides, and Proteins in Aqueous Solution. I. Factors Affecting the Rate Constants.
Radiation Res., 62, (1975), 357.
- 238) Tallentire, A., Jacobs, G.P.:
Radiosensitization of Bacterial Spores by Ketonic Agents of Differing Electron-Affinities.
Int. J. Radiat. Biol., 21, (1972), 205.
- 239) Tanaka, Y.:
Regional Tumor Blood Flow and Radiosensitivity. In: Fraction Size in Radiobiology and Radiotherapy. Urban und Schwarzenberg, München - Berlin - Wien, 1974, p. 13.
- 240) Tannock, I.F.:
The Relation Between Cell Proliferation and the Vascular System in a Transplanted Mouse Mammary Tumour.
Brit. J. Cancer, 22, (1968), 258.
- 241) Tannock, I.F.:
Oxygen Diffusion and the Distribution of Cellular Radiosensitivity in Tumours.
Brit. J. Radiology, 45, (1972), 515.
- 242) Thomlinson, R.H.:
An Experimental Method for Comparing Treatments of Intact Malignant Tumours in Animals and its Application to the Use of Oxygen in Radiotherapy.
Brit. J. Cancer, 14, (1960), 555.

- 243) Thomlinson, R.H.:
Oxygen Therapy-Biological Considerations.
In: Modern Trends in Radiotherapy, Eds. T.J. Deeley,
C.A.P., Wood, Butterworths, London, 1967, p. 52 - 72.
- 244) Thomlinson, R.H.:
Changes of Oxygenation in Tumours in Relation to Irra-
diation.
Front. Radiat. Ther. Onc., 3 (1968), 109. Karger, Basel -
New York.
- 245) Thomlinson, R.H., Gray, L.H.:
The Histological Structures of Some Human Lung Cancers
and the Possible Implications for Radiotherapy.
Brit. J. Cancer, 9, (1955), 539.
- 246) Thomson, J.E., Rauth, A.M.:
A Comparison of the Effectiveness of NF-167 and Metro-
nidazole as Hypoxic Cell Sensitizer of KHT Tumor Cells
In Vitro.
Radiation Res., 60, (1974), 489.
- 247) Tisljar-Lentulis, G.M.:
Persönliche Mitteilungen, 1976.
- 248) Trott, K.R.:
Strahlenwirkungen auf die Vermehrung von Säugetierzellen.
VIII. Erholungsprozesse nach Bestrahlung. In: Handbuch
der medizinischen Radiologie, Band II/3, Springer, Berlin-
Heidelberg-New York, 1972.
- 249) Trott, K.R.:
Strahlenwirkungen auf die Vermehrung von Säugetierzellen.
IX. Die Abhängigkeit der Strahlenwirkung von der Sauer-
stoffkonzentration. In: Handbuch der medizinischen Radio-
logie, Band II/3, Springer, Berlin-Heidelberg-New York,
1972.
- 250) Trott, K.R.:
Strahlenbiologische Grundlagen der Strahlentherapie unter
besonderer Berücksichtigung der Therapie mit Korpuskular-
strahlen.
Strahlentherapie, 148, (1974), 451.

- 251) Tubiana, M., Frindel, E., Malaise, E.:
La cinetique de proliferation cellulaire dans les
tumeurs animales et humaines - influence d'une
irradiation. In: Effects of Radiation on Cellular
Proliferation and Differentiation.
Int. Atomic Energy Agency, Vienna, 1968, p. 423-452.
- 252) Urtasun, R.C., Merz, T.:
X-Radiation Damage to the Hypoxic Core and to the
Periphery of a Tumor.
Radiology, 92, (1969), 1089.
- 253) Urtasun, R.C., Sturmwind, J.:
"High-Dose" Metronidazole: A Preliminary Pharmacological
Study Prior to its Investigational Use in Clinical Radio-
therapy Trials.
Brit. J. Radiology, 47, (1974), 297.
- 254) Van Hemmen, J.J.:
Some Reactions of the Hydroxyl Adduct of Adenine.
Int. J. Radiation Biol., 27, (1975), 403.
- 255) Van Putten, L.M.:
Tumour Reoxygenation During Fractionated Radiotherapy;
Studies with a Transplantable Mouse Osteosarcoma.
Europ. J. Cancer, 4, (1968), 173.
- 256) Van Putten, L.M., Kallman, R.F.:
Oxygenation Status of a Transplantable Tumor During
Fractionated Radiation Therapy.
J. National Cancer Inst., 40, (1968), 441.
- 257) Van Putten, L.M., Smink, T.:
Experimental Tumour Therapy. Hypoxic Sensitizers
Less Effective with Prolonged Daily Radiotherapy.
Annual Report, 1975. Radiobiological Institute TNO,
Experimental Gerontology Institute for TMO, Primate
Center TNO, Rijswijk, Netherlands.
- 258) Warburg, O.:
On the Origin of Cancer Cells.
Science, 123, (1956), 309.

- 259) Watson, J.B.:
Molecular Biology of the Gene.
W.A. Benjamin, New York, 1965.
- 260) Watson, J.D., Crick, F.H.C.:
A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid.
Nature, 171, (1953), 737.
- 261) Weber, H.-J.:
In-vivo-Untersuchungen über die Kombinationseffekte
von Hyperthermie und Co-60-Bestrahlung auf oxische
und hypoxische Tumorzellen bei einem soliden Experimentaltumor (Sarkom 180). Zellmarkierung mit Jod-Desoxyuridin.
Diplomarbeit in Biologie, Universität Giessen/Kernforschungsanlage Jülich, IME, 1976.
- 262) Weiss, H., Ling, C.C., Epp, E.R., Santomasso, A., Heslin, J.M.:
Irradiation of *Serratia Marcescens* by Single and Double Pulses of High-Intensity Electrons: Oxygen Diffusion Kinetics and Lifetime of Oxygen-Sensitive Species.
Radiation Res., 61, (1975), 355.
- 263) Whillans, D.W., Adams, G.E.:
Electron-Affinic Sensitization. VI. A Pulse Radiolysis and ESR Comparison of Some 2- and 5-Nitroimidazoles.
Radiation Res., 62, (1975), 407.
- 264) Whitmore, G.F., Gulyas, S., Botond, J.:
Radiation Sensitivity throughout the Cell Cycle and its Relationship to Recovery. In: Cellular Radiation Biology. Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1965. p. 423-441.
- 265) Whitmore, G.F., Gulyas, S., Varghese, A.J.:
Studies on the Radiation-Sensitizing Action of NDPP, A Sensitizer of Hypoxic Cells.
Radiation Res., 61, (1975), 325.

- 266) Whitmore, G.F., Rauth, A.M., Gulyas, S., Kaufman, K., Bush, R.S.:
Studies on Sensitizers of Hypoxic Cells In Vitro and In Vivo. In: Advances in Chemical Radiosensitization. Panel Proc. Series, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1974, p. 13.
- 267) Wideröe, R.:
A Critical Review of Radiation Therapy Using Hyperbaric Oxygen Treatment.
Fortsch. Geb. Röntgenstr. Nuklearmed., 110, (1969), 738.
- 268) Willson, R.L.:
The Reaction of Oxygen with Radiation-Induced Free Radicals in DNA and Related Compounds.
Int. J. Radiation Biol., 17, (1970), 349.
- 269) Willson, R.L., Gilbert, B.C., Marshall, P.D.R., Norman, R.O.C.:
Metronidazole ('Flagyl'): A Pulse Radiolysis and E.S.R. Study.
Int. J. Radiat. Biol., 26, (1974), 427.
- 270) Wilson, C.W.:
Possible Implications of Recent Radiobiological Observations for Tumor-Dose-Fractionation Schedules.
Radiology, 77, (1961), 940.
- 271) Withers, H.R.:
The Effect of Oxygen and Anaesthesia on Radio-sensitivity In Vivo of Epithelial Cells of Mouse Skin.
Brit. J. Radiol. 40, (1967), 335.

DANKSAGUNG

Herrn Prof.Dr. L.E. Feinendegen, Direktor des Instituts für Medizin der Kernforschungsanlage Jülich GmbH, danke ich für die Gelegenheit, in seinem Institut zu arbeiten, für seine großzügige Förderung, sowie für das Thema dieser Arbeit und die anregenden Diskussionen.

Herrn Prof.Dr. O. Hess, Direktor des Instituts für Allgemeine Biologie der Universität Düsseldorf, danke ich für die Übernahme des Referats und für sein stetiges Interesse an dieser Arbeit.

Herrn Dr. W. Porschen möchte ich danken für die freundliche Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seiner Abteilung, sowie für eine Reihe grundlegender Diskussionen und nützlicher Hinweise.

Für die gute Zusammenarbeit und die tatkräftige Hilfsbereitschaft gilt mein besonderer Dank Herrn Ingenieur H. Mühlensiepen, sowie Frau M. Ockenfeld für die wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

L e b e n s l a u f

Am 29.7.1945 wurde ich, Klaus Gewehr, in Celle/Niedersachsen geboren als Sohn des Chemikers Dr. Rudolf Gewehr und seiner Ehefrau Ilse Gewehr, geb. Knecht.

1952 wurde ich in Wuppertal-Barmen eingeschult. Ein mehrfacher Wohnortwechsel ließ mich verschiedene Schulen besuchen; so 1954 die Volksschule in Obernburg/Main, 1956 die Oberrealschule Miltenberg, 1958 das Gymnasium Erkenz, 1962 das Gymnasium Wuppertal, wo ich im Feb. 1966 meine Reifeprüfung ablegte.

Nach einer 18-monatigen Wehrdienstzeit in der Bundeswehr begann ich im Okt. 1967 das Studium der Physik an der Technischen Hochschule Aachen. Am Institut für Metallkunde und Metallphysik führte ich von Okt. 1972 bis Juli 1974 meine Diplomarbeit durch. Im Okt. 1974 bestand ich die Diplomprüfung in Aachen.

Während meines Studiums war ich für 2 1/2 Jahre als Studentische Arbeitskraft im Institut für Hochspannungstechnik der Technischen Hochschule Aachen, sowie im Institut für Festkörperforschung der Kernforschungsanlage Jülich tätig.

Seit Mai 1974 bin ich verheiratet; meine Ehefrau ist Felizitas Gewehr, geb. Brauer.

Im Jan. 1975 begann ich meine Tätigkeit als Doktorand in dem Institut für Nuklearmedizin der Kernforschungsanlage Jülich.

Aachen, Stettinerstr. 54, am 20.4.1977

Klaus Gewehr

